



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
INSTITUTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO
DE Sb(III) E Sb TOTAL EM AMOSTRA DE INTERESSE
AMBIENTAL UTILIZANDO GERAÇÃO DE HIDRETOS ACOPLADA
À ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA**

Mestranda: Thaís de Souza Néri

Orientadora: Prof. Dra. Nívia Maria Melo Coelho

**Uberlândia
2014**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO
DE Sb(III) E Sb TOTAL EM AMOSTRA DE INTERESSE
AMBIENTAL UTILIZANDO GERAÇÃO DE HIDRETO ACOPLADA
À ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA**

Mestranda: Thaís de Souza Néri

Orientadora: Prof. Dra. Nívia Maria Melo Coelho

Área de concentração: Química Analítica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Uberlândia

Fevereiro /2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Elaborada por Maria Salete de Freitas Pinheiro – CRB -1262

N445d Néri, Thaís de Souza, 1984-

Desenvolvimento de um método para determinação de hidretos(III) e hidretos total em amostra de interesse ambiental utilizando geração de hidretos acoplada à espectrometria de absorção atômica com chama / Thaís de Souza Néri. - 2014.

97 f. : il.

Orientadora: Nívia Maria Melo Coelho.

Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Hidretos - Teses. 3. Espectrometria de absorção atômica - Teses. I. Coelho, Nívia Maria Melo. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química.

CDU: 54



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em
Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 181/PPQUI.

DATA: 17/02/2014

DISCENTE: Thais de Souza Neri

MATRÍCULA: 11212QMI018

TÍTULO DO TRABALHO: Desenvolvimento de um método para determinação de Sb (III) e Sb total em amostra de interesse ambiental utilizando geração de hidretos acoplada à spectrometria de absorção atômica com chama.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Especiação de selênio usando um sistema *eletrostaking* em fluxo.

Às quinze horas do dia dezessete de fevereiro do ano dois mil e quatorze, no Auditório F do Bloco 50, no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Douglas Gonçalves da Silva, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz e Nívia Maria Melo Coelho, do Instituto de Química da UFU, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em seqüência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e Aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será martido

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 10 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Douglas Gonçalves da Silva

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva

UESB

Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

IQUFU

Nívia Maria Melo Coelho

Orientador(a): Profª Dra. Nívia Maria Melo Coelho – IQUFU

Universidade Federal de Uberlândia - Avenida João Naves de Ávila, nº 2121, Bairro Santa Mônica - 38.400-144 - Uberlândia - MG

+55 - 34 - 3236-4365

cpqg.imec.ufu.br

<http://www.cpqg.imec.ufu.br>

Os sentimentos bons libertam a ALMA.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente ao grande mestre e criador desse universo, que me deu a oportunidade de desfrutar desse imenso planeta, Deus!

Agradeço a minha orientadora profa. Drª. Nivia Maria Melo Coelho pela orientação concedida e por ter me recebido e confiado todo esse tempo em mim.

Ao meu marido Caic por caminhar junto comigo, pelo amor, pela cumplicidade e amizade em todos os momentos dessa trajetória.

Aos meus pais Idália e Nilson por sempre acreditarem em mim e terem me proporcionado ao longo desses anos outra visão da educação; nada seria sem vocês!

Aos meus irmãos Nilsinho e Lais pelo apoio e por tudo de bom que vocês representam em minha vida.

As minhas sobrinhas Lara, Iasmin e Lívia pela alegria que me trazem só pelo fato de existirem.

Aos meus padrinhos e tios Idália e Sergio pelo amor, carinho, conselhos, incentivos sempre.

Aos meus tios Sônia, Salim e Ângela pela amizade, incentivo e dedicação durante todo esse tempo.

A todos os meus primos pelos momentos vividos.

À minha cunhada Catiele pela amizade, pela troca de experiências e pelas longas conversas.

A todos os amigos do laboratório LEA, Sol, Hélen, Ione, Bruno, Sângela, Fernanda, Daniele, Thiago, Eliezer, especialmente Simone, Vanessa e Dayene por tudo que aprendi nesses anos, por todos os momentos vividos, pela amizade e por serem meu braço direito na maioria das vezes.

Agradeço aos alunos de iniciação científica Lidi, Ulisses, Murilo, Bruna e Karen. Vocês acrescentaram muito o meu conhecimento e fizeram dos meus dias nessa caminhada dias felizes!!!

Aos amigos baianos de Uberlândia que partilharam comigo muitos momentos de alegria. É muito bom tê-los por perto!!! Sem esquecer-se dos membros que levam a Bahia no coração e fazem parte desse grupo Dalva e Hudson.

A Tia Neide e Tio Donizete que me acolheram nessa cidade com muito amor e carinho.

À todos os amigos do laboratório LQA, especialmente Mardson, Deninha, Débora e Liz, a todos vocês o meu muito obrigada.

À Mayta pela sua disponibilidade, ajuda e amizade.

Aos colegas de pós-graduação.

Aos professores do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia especialmente ao professor Waldomiro Borges Neto, Rodrigo Alejandro Munhoz e Wellington de Oliveira Cruz.

À CAPES pela bolsa concedida.

A todos que torceram e contribuíram para essa realização.

RESUMO

Desenvolvimento de um método para determinação de Sb(III) e Sb total em amostra de interesse ambiental utilizando geração de hidretos acoplada à espectrometria de absorção atômica com chama

No presente trabalho foi desenvolvido um método para determinação de Sb(III) e Sb total em linha com a utilização do reagente NaBH₄, com detecção por espectrometria de absorção atômica com chama acoplado a geração de hidretos. Para a determinação de Sb(III) foram estudadas as variáveis vazão da amostra, concentrações e vazões do HCl e do NaBH₄. Para a determinação de Sb total foram estudadas as concentrações e vazões do NaBH₄ a fim de avaliar a análise direta no gerador de hidretos com a pré-redução do Sb(V) em linha. A frequência analítica foi de 30 análises por hora e a precisão em termos de desvio padrão relativo para Sb(III) foi de 0,38% e para Sb total foi de 0,08%. A exatidão do método proposto foi avaliada por meio de teste de recuperação e adição padrão aplicada em amostras de águas e por análise dos materiais certificados (APS 1066 sedimentos e APS 1075 água potável). Foram obtidas recuperações quantitativas na faixa de 98,8 – 103,7%. Os limites de detecção e quantificação para determinação de Sb(III) foram de 0,22 µg L⁻¹ e 0,73 µg L⁻¹ e para Sb total foram de 0,25 µg L⁻¹ e 0,82 µg L⁻¹, respectivamente. Por fim, amostras reais de água do mar, algas, crustáceos e sedimentos da região de Ubatuba–SP foram analisadas pelo método desenvolvido.

Palavras-chave: Geração de hidretos, antimônio, amostras ambientais.

ABSTRACT

Development of a method for determination of Sb(III) and total Sb in environmental samples of interest by hydride generation atomic absorption spectrometry

In this work, a method for Sb(III) and total Sb determination of using NaBH₄ reagent online with by generating hydrides atomic absorption spectrometry was developed. For the determination of Sb(III) variables such as sample flow-rate, flow-rate and concentration of HCl and NaBH₄ were studied. For the determination of total Sb variables such as concentration and flow-rate of NaBH₄ were studied to ensure direct analysis by hydride generation using online prereduction of Sb(V). The analytical frequency was 30 analyzes per hour and precision, relative standard deviation, for Sb(III) was 0.38% and for total Sb was 0.08%. The accuracy of the proposed method was evaluated by addition and recovery tests applied in water samples and analysis of certified materials (APS 1066 sediments and APS 1075 drinking water). Recovery tests were in the range of 98.8 – 103.7%. Limits of detection and quantification for determination of Sb(III) were 0.22 µg L⁻¹ and 0.73 µg L⁻¹ and the total Sb were 0.25 µg L⁻¹ and 0.82 µg L⁻¹, respectively. Finally, samples of seawater, algae, crustaceans and sediments of Ubatuba-SP were analyzed by the developed method.

Keywords: Hydride generation, antimony, environmental samples.

Sumário

AGRADECIMENTOS.....	6
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
LISTA DE SIGLAS.....	12
LISTA DE TABELAS.....	13
1.INTRODUÇÃO.....	017
1.1. Antimônio.....	020
1.1.1. Propriedades físico-químicas e generalidades.....	020
1.1.2. Ocorrência no Meio Ambiente.....	021
1.1.2. Toxicidade do antimônio.....	023
1.1.4. Antimônio nas amostras ambientais.....	27
1.2.Técnicas espectroanalíticas para determinação de Sb.....	34
1.2.1. Sistema de Geração de Hidretos.....	34
1.2.2. Transporte do Hidreto ao Atomizador.....	36
1.2.3. Interferências no Método de Geração de Hidretos.....	37
1.2.4. Métodos para determinação seletiva de Sb.....	40
2. OBJETIVOS.....	44
2.1 Objetivo Geral.....	44
2.2. Objetivos Específicos.....	44
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	46
3.1. Instrumentação.....	46
3.2. Reagentes e Soluções.....	48
3.3. Figuras de Mérito.....	48
3.4. Amostras.....	50
3.4.1. Procedimentos de Coleta das amostras de água, algas, crustáceos, sedimentos e	35

água mineral.....	
3.4.2. Preparo das amostras.....	52
3.4.2.1. Algas e crustáceos.....	52
3.4.2.2. Sedimento.....	54
3.4.2.3. Água do mar.....	55
3.4.2.4. Água mineral.....	55
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	57
4.1. Concentração da solução de NaBH ₄ para determinação de Sb(III) e Sb total.....	57
4.2. Otimização das variáveis do sistema de HG-FAAS.....	58
4.2.1. Vazão do gás de arraste.....	58
4.2.2. Vazão do NaBH ₄	59
4.2.3. Concentração do Ácido Clorídrico (HCl)	60
4.2.4. Vazão do ácido clorídrico na formação do hidreto.....	62
4.2.5. Vazão da injeção da amostra.....	63
4.2.6. Estudo da redução de Sb(V) para Sb(III)	65
4.3. Resumo das condições após otimização.....	69
4.4. Teste de Seletividade.....	70
4.5. Linearidade, Sensibilidade e Precisão.....	72
4.6. Frequência de amostragem.....	74
4.7. Teste de Exatidão.....	74
4.8. Aplicação do método nas amostras de Água do mar, algas, crustáceos e sedimento....	78
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
5.1 Perspectivas.....	83
6. REFERÊNCIAS.....	84

LISTA DE SIGLAS

AAS – Espectrometria de Absorção Atômica

AFS – Espectrometria de Fluorescência Atômica

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ANP – Agência Nacional de Petróleo

EC – Eficiência de concentração

EEA – Espectroscopia de emissão atômica

ET AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica

FA – Frequência de amostragem

F AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Chama

FI – Fator de interferência

HG – Geração de Hidretos

HG AAS – Geração de Hidretos acoplado a Espectrometria de Absorção Atômica.

IC – Índice de Consumo

ICP OES - Espectroscopia de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente

ICP-MS - Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

RSD – Desvio padrão relativo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características físico-químicas do antimônio.....	05
Tabela 2: Energias de ionização do Sb.....	07
Tabela 3: Distribuição da concentração do Sb em diferentes sistemas....	08
Tabela 4: Compostos de antimônio mais tóxicos nas formas inorgânicas e orgânicas com suas respectivas fórmulas químicas, algumas aplicações e referências.....	10
Tabela 5: Valores máximos de concentrações exigidas pelas respectivas portarias	12
Tabela 6: Principais espécies de Sb em amostras ambientais.	13
Tabela 7: Determinação de antimônio em diferentes amostras de água....	14
Tabela 8: Determinação de antimônio em diferentes amostras de sedimentos.....	15
Tabela 9: Determinação de antimônio em diferentes amostras ambientais.....	18
Tabela 10: Valores de concentração de antimônio em diferentes amostras de animais aquáticos.....	19
Tabela 11: Determinação de antimônio em amostras de água utilizando geração de hidretos (HG) acoplada a diferentes técnicas.....	27
Tabela 12: Condições otimizadas do método desenvolvido para a determinação de Sb (III) e Sb total.....	55
Tabela 13: Valores de concentração da solução mista para estudo de interferentes na determinação de Sb(III)	57
Tabela 14: Parâmetros de linearidades para as curvas analíticas da Figura 19 representadas acima como A e B.....	59
Tabela 15: Teste de recuperação de Sb(III) e Sb total em amostras de água mineral	61
Tabela 16: Aplicação das amostras certificadas no método desenvolvido para determinação de Sb(III) e Sb total.....	61
Tabela 17: Comparação de métodos de especiação de Sb(III)/Sb(V) utilizando geração de hidretos	62
Tabela 18: Resultados das amostras de água do mar, algas, crustáceos e sedimentos coletadas na praia de Itaguá Ubatuba-SP.....	63

Lista de Figuras

Figura 1: Distribuição dos elementos trabalhados em publicações envolvendo métodos de especiação/extracção seletiva	03
Figura 2: Representação do processo de contaminação por antimônio no organismo humano	11
Figura 3: Esboço do sistema de geração de hidretos acoplado ao espectrômetro de absorção atômica com chama	22
Figura 4: Representação das etapas de HG associadas à detecção por AAS	25
Figura 5: Esboço do sistema utilizado para a determinação e especiação de Sb(III) e Sb total. Modelo do F AAS SpectrAA-220 (Varian®, Victoria, Austrália); modelo do HG VGA 77	33
Figura 6: Localização da área de estudo com indicação dos pontos de coleta no município de Ubatuba, litoral norte do estado de São Paulo: 1- Praia da Fortaleza; 2- Praia do Lamberto; 3- Praia de Itaguá.....	37
Figura 7: Vista geral dos locais onde foram realizados os estudos no município de Ubatuba: A- Praia da Fortaleza; B- Praia do Lamberto; C- Praia de Itaguá.....	38
Figura 8: Fluxograma desde o tratamento até a abertura das amostras de algas e crustáceos	39
Figura 9: Fluxograma do sistema de análise desenvolvido para a determinação de Sb(III) e Sb total	40
Figura 10: Fluxograma para o procedimento de abertura de amostra de sedimento	41
Figura 11: Estudo da influência da concentração de NaBH ₄ na geração do hidreto de antimônio com as seguintes condições: Sb(III) e Sb(V) 10,0 µg L ⁻¹ , vazão do gás de arraste 100 mL min ⁻¹ , Concentração de HCl 5% (v/v) e determinação por HG AAS	43
Figura 12: Estudo da influência da vazão de NaBH ₄ na geração do hidreto de antimônio com as seguintes condições: Sb(III) 10,0 µg L ⁻¹ , vazão do gás de arraste 100 mL min ⁻¹ , Concentração de HCl 5% (v/v), vazão de HCl 7,0 mL min ⁻¹ , concentração do NaBH ₄ 0,4% (m/v) e	

determinação por HG AAS	45
Figura 13: Estudo da influência da concentração de HCl na geração do hidreto de antimônio as seguintes condições: Sb(III) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH ₄ 0,4% (m/v), vazão do NaBH ₄ 6,0 mL min ⁻¹ , vazão de HCl 7,0 mL min ⁻¹ , vazão do gás de arraste 100 mL min ⁻¹ e determinação por HG AAS	47
Figura 14: Estudo da influência da vazão do ácido clorídrico na formação do hidreto de antimônio. Condições: Sb(III) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH ₄ 0,4% (m/v), vazão do NaBH ₄ 6,0 mL min ⁻¹ , concentração de HCl 5% (v/v), vazão do gás de arraste 100 mL min ⁻¹ e determinação por HG AAS	48
Figura 15: Estudo da vazão de Sb(III) na introdução do HG. Sb(III) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH ₄ 0,4% (m/v), vazão do NaBH ₄ 6,0 mL min ⁻¹ , concentração de HCl 5% (v/v), vazão do HCl 7,0 mL min ⁻¹ vazão do gás de arraste 100 mL min ⁻¹ e determinação por HG AAS	50
Figura 16: Estudo da eficiência do redutor na redução de Sb(V) para Sb(III). Condições: Sb(III) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH ₄ 0,4% (m/v), vazão do NaBH ₄ 6,0 mL min ⁻¹ , concentração de HCl 5% (v/v), vazão do HCl 7,0 mL min ⁻¹ , vazão da amostra 4,0 mL min ⁻¹ , vazão do gás de arraste 100 mL min ⁻¹ e determinação por HG AAS	51
Figura 17: Estudo da eficiência do redutor NaBH ₄ na redução direta no HG de Sb(V) para Sb (III). Condições: Sb(V) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH ₄ 6% (m/v), concentração do ácido clorídrico 5% (v/v), vazão do HCl 7,0 mL min ⁻¹ , vazão da solução de Sb 4,0 mL min ⁻¹ , vazão do gás de arraste 100 mL min ⁻¹ e determinação por HG AAS	53
Figura 18: Estudo da comparação da redução do Sb(V) utilizando NaBH ₄ diretamente no HG com as absorbâncias de Sb(III). Condições: Sb(III) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH ₄ 0,4% (m/v), concentração do HCl 5% (v/v), vazão do HCl 7,0 mL min ⁻¹ . Condições Sb(V): Sb(III) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH ₄ 6,0% (m/v), concentração do HCl 5% (v/v), vazão do HCl 7,0 mL min ⁻¹	54
Figura 19: Curva analítica para o método proposto, sendo A: curva analítica para determinação de Sb(III) com injeção direta no HG; B: Curva analítica para determinação de Sb total	59
Figura 20: Representação das concentrações em ($\mu\text{g g}^{-1}$) de Sb total na praia de Itaguá-SP	65

CAPÍTULO 1: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento toxicológico das espécies químicas presentes no meio ambiente é necessário, pois é importante compreendê-las e determiná-las no âmbito da sua existência, ocorrência, comportamentos e mecanismos de ação etc. (Fukushima, 2008). Portanto, o estudo dos elementos – traço vem ganhando destaque principalmente quando esses elementos estão dispostos no meio ambiente em diferentes estados de oxidação, consequentemente, com reatividades diferentes, fazendo necessária a diferenciação das espécies de um mesmo elemento.

Embora, o conhecimento da concentração total de um elemento seja muito útil, é essencial, em muitos procedimentos analíticos, a determinação das espécies químicas nas quais os elementos estão distribuídos (Van Loon, 1992). Atualmente, a determinação total de um elemento é uma informação limitada, especialmente sobre seu comportamento no meio ambiente e nos danos que podem causar à saúde humana (Barra, 2000), a depender da forma física, química e biológica por ele apresentada (Gonzalvez *et al.*, 2009).

Segundo a IUPAC, o termo espécie química é definido como uma forma específica de um elemento com relação à composição isotópica, estado de oxidação ou eletrônico, e/ou estrutura molecular ou complexada. Desta forma, a análise de especiação foi definida como sendo a atividade analítica de identificação e/ou quantificação de uma ou mais espécies químicas individuais, assim concluindo que especiação envolve a distribuição e o monitoramento entre espécies químicas definidas em um sistema (IUPAC, 2000).

Segundo Gonzalvez e colaboradores (2009), alguns elementos vêm ganhando destaque para serem estudados em seus diferentes estados de oxidação. Esses elementos podem ser observados na Figura 1, entre eles, o antimônio com publicações em 9% do total dos trabalhos na área de especiação e extração seletiva.

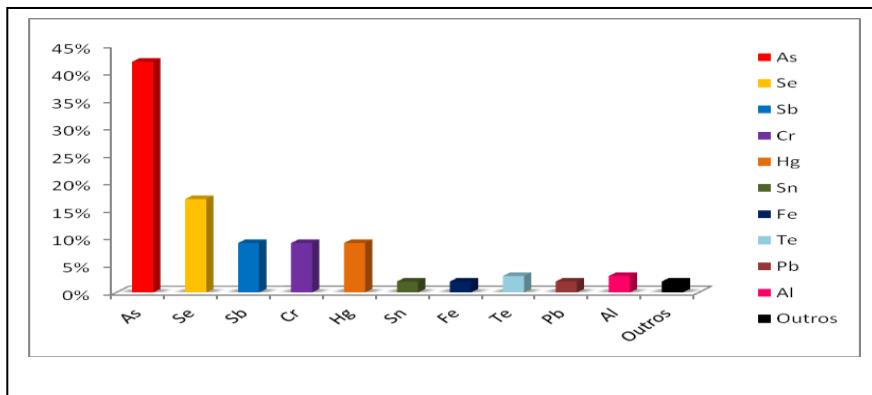


Figura 1: Distribuição dos elementos trabalhados em publicações envolvendo métodos de especiação/extração seletiva (Gonzalvez *et al.*, 2009).

O estudo dos compostos de antimônio vem despertando grande interesse entre pesquisadores, devido à sua aplicabilidade na indústria como a utilização em tintas, em semicondutores, indústria de vidro, cerâmica, entre outros (Krachler *et al.*, 2008; Chen e Jiang, 1996; Matsubara, 2011).

Uma vez que o Sb está pouco disponível na natureza, o mesmo só será encontrado no meio ambiente em locais críticos (ambientes contaminados ou próximo a indústrias, contaminantes e outros) de fonte antropogênica (Krachler *et al.*, 1999; Krachler *et al.*, 2005).

Não se tem conhecimento sobre a funcionalidade que o Sb venha a desempenhar nos organismos celulares, portanto qualquer quantidade presente nesses organismos é indicativo de contaminação.

Nesse sentido, a especiação de antimônio é importante porque a sua toxicidade, biodisponibilidade e reatividade dependem do estado de oxidação e também da natureza dos diferentes compostos. Geralmente, as espécies inorgânicas de antimônio são mais tóxicas do que as espécies orgânicas, sendo entre as inorgânicas, Sb (III) 10 vezes mais tóxico que Sb (V) (Gonzalvez *et al.*, 2009).

Muitas são as técnicas analíticas que podem ser usadas para determinação de Sb. As técnicas analíticas instrumentais possibilitam e facilitam a determinação desse metaloide em nível traço (Gonzalvez *et al.*, 2009).

A técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS) tem sido empregada para a quantificação de muitos metais, por apresentar boa

seletividade, relativa simplicidade na análise, alta frequência analítica e baixo custo quando comparada a outras técnicas espectroscópicas como ET AAS, ICP-MS, ICP OES, entre outras (Tarley e Arruda, 2004; Nascentes *et al*, 2004). No entanto, o F AAS apresenta baixa sensibilidade quando se deseja quantificar espécies analíticas em concentrações menores que mg L⁻¹. Isso acontece porque nem sempre o processo de nebulização, onde 5-10% do volume da amostra atinge a chama, é suficiente para a determinação de alguns analitos.

Diante destas limitações algumas estratégias têm sido utilizadas para aumentar a sensibilidade do F AAS. Uma alternativa que se apresenta é a transformação da espécie de interesse em um composto volátil, e seu posterior transporte para uma célula de atomização (Holak, 1969). Quando esta transformação se faz por meio de uma reação química, o processo é conhecido como geração de vapor ou geração de hidretos. No desenvolvimento dessas alternativas se destacam os trabalhos de Kratzer e Dedina (2008) e de Dedina e Tsalev (1995) com o desenvolvimento da espectrometria de absorção atômica acoplada ao gerador de hidretos que utiliza um separador gás-líquido, onde ocorre a reação química sendo os hidretos separados por meio de volatilização e levados até a cela de atomização em forma de T. A introdução dos hidretos na célula de atomização não necessita da nebulização aumentando assim a eficiência no momento da atomização. Esse aumento ocorre devido a maior eficiência no transporte do analito, em comparação com a nebulização pneumática, uma vez que a maior parte do vapor atômico formado alcança o atomizador (Takas *et al.*, 2002). Sendo assim, uma das técnicas utilizadas para determinação de Sb (III) é a espectrometria de absorção atômica (AAS) associada à geração de hidretos (HG) (Barra, 2000).

Neste trabalho, foi realizada otimização de um procedimento para determinação direta de Sb(III) e Sb total utilizando o agente redutor NaBH₄ para reduzir Sb total em Sb(III), eliminando a etapa de pré-redução com determinação em espectrometria de absorção atômica com chama acoplada a geração de hidretos. Após a metodologia otimizada, a mesma foi aplicada em amostras de água mineral obtido no comércio de Uberlândia, e água do mar, algas, crustáceos e sedimentos obtido nas praias de Itaguá, Lamberto e Fortaleza da região de Ubatuba – SP.

1.1 Antimônio

1.1.1 Propriedades físico-químicas e generalidades

O antimônio é um elemento que se encontra na família 5A ou grupo 15 da tabela periódica, seu nome deriva do latim antimonium (*anti* – oposto a; *monium* – condições isoladas) (Atkins e Jones, 2001). O Sb possui propriedades físico-químicas definidas como descritas na Tabela 1. É um metaloide (possui tanto características de metais como de ametais) e está amplamente distribuído na natureza, sendo estimada a sua abundância natural na crosta terrestre de 0,2 a 0,5 mg Kg⁻¹ (Wedepohl, 1996; Sadeghi e Enferadi, 2010). É geralmente encontrado em minérios associados principalmente ao enxofre, chumbo, cobre e prata. O Sb ocorre principalmente na forma do minério estilbita (Sb₂S₃) e possui uma coloração acinzentada. Há também ocorrência de outros sulfetos, mas em pequenas quantidades como a ulmanita (NiSbS), a livingstonita (HgSb₄S₈), a tetrahedrita (Cu₃SbS₃), a calcostibita (CuSbS₂) e a jamesonita (FePb₄Sb₆S₁₄). É um metaloide pouco encontrado na forma nativa.

Tabela 1: Características físico-químicas do antimônio

Número atômico	51
Peso molecular	121,76
Volume molar	18,19 cm ³ mol ⁻¹
Ponto de fusão	903,78 K
Ponto de ebulação	1860,00 K
Densidade	6,697 (g/cm ³) (298 K)
Resistividade elétrica	41,7 µΩ cm (293 K)
Condutividade térmica	24 W m ⁻¹ K ⁻¹
Estado físico (25ºC)	Sólido
Número de Oxidação	-3,+3, +5
Isótopos estáveis (%)	¹²¹ Sb (57,21) e ¹²³ Sb (42,78)
abundância natural)	

Fonte:<http://www.quimlab.com.br/guiadoselementos/antimonio.htm>

O Sb possui configuração eletrônica [Kr] 4d¹⁰ 5s² 5p³, tendo os seus elétrons desemparelhados nas duas últimas camadas. Os orbitais s e p da camada 5 permite o Sb apresentar diferentes estados de oxidação (-III, 0, III e V). Pode ser isolado pela redução do sulfeto com ferro como descrito na Equação 1 (Corby 2012). Na Tabela 2 é possível se observar as diferentes energias de ionização do Sb.

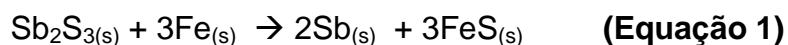


Tabela 2: Energias de ionização do Sb.

Energia de Ionização	(kJ mol ⁻¹)
$\text{Sb} \rightarrow \text{Sb}^+$	834
$\text{Sb}^+ \rightarrow \text{Sb}^{2+}$	1595
$\text{Sb}^{2+} \rightarrow \text{Sb}^{3+}$	2440
$\text{Sb}^{3+} \rightarrow \text{Sb}^{4+}$	4260
$\text{Sb}^{4+} \rightarrow \text{Sb}^{5+}$	5400
$\text{Sb}^{5+} \rightarrow \text{Sb}^{6+}$	10400

Fonte: *Handbook of Chemistry and Physics – 74a. ed., 2000 ; Filella et al., 2002*

1.1.2 Ocorrência no Meio Ambiente

Os estados de oxidação do antimônio podem variar entre -III, 0, III e V, porém em amostras biológicas, ambientais e geológicas é encontrado nos estados de oxidação (III) e (V) (Filella et al., 2002; Matsubara, 2011; Filella et al., 2007). A distribuição do antimônio no planeta Terra está presente em diferentes concentrações na atmosfera, na crosta terrestre, ar, água, solo e alimentos. A Tabela 3 apresenta as concentrações de Sb presentes nas diferentes matrizes citadas anteriormente.

Tabela 3: Distribuição da concentração do Sb em diferentes sistemas

Sistema	Local de estudo	Concentração	Referência
Abundância atmosférica	----	0,246 mg kg ⁻¹	Suess e Urey (1956)
Abundância terrestre	----	0,7 mg kg ⁻¹	Boyle e Jonasson (1973)
Média da abundância na crosta terrestre	----	0,1 mg kg ⁻¹	Onishi e Sandell (1955); Onishi (1969)
Ar	Nova Iorque	50 mg m ⁻³	Bencze (1994)
Água	----	6 x 10 ⁻³ mg Kg ⁻¹	Filella (2002)
Solo	----	1 mg kg ⁻¹	Nash, Maskall e Hill (2000)
Alimentos	Nova Iorque	0,25 – 1,2 mg/dia	Bencze (1994)

Em ambientes moderadamente redutores e anaeróbicos predominam as formas trivalentes. A espécie pentavalente predomina em meios ricos em oxigênio. A estabilidade e a predominância das espécies de antimônio em meio aquático dependem do pH (Baird, 2002).

O Sb, na forma de minério é encontrado principalmente na China, México, Bolívia, África do Sul e Chile. O Brasil, mesmo com grandes potenciais de reservas de diferentes minérios, não possui reservas significativas de Sb (Conrado, 2009).

No meio ambiente, o Sb é proveniente de duas fontes bem distintas, natural e antrópica. As atividades naturais capazes de fornecer a presença do Sb no ambiente advêm do intemperismo das rochas e solos pela ação de agentes atmosféricos (erosão) e erupções vulcânicas (Krachler *et al.*, 2008). A

concentração de Sb presente de diferentes formas no ambiente proveniente das fontes de atividades humanas supera a quantidade emitida de fontes naturais, isso porque o metaloide começou a ser utilizado e aplicado em diferentes setores como o uso de Sb em variados tipos de plásticos como PET e PVC, na metalurgia como elemento aditivo, como ingrediente em ligas de estanho, revestimento de cabos, moldes, soldaduras, tubos, como revestimento cerâmico e em instrumentos de metal, como pigmento branco em tintas, na fabricação de objetos à prova de fogo, composição de vidros, plásticos, papel, borracha e na preparação de fármacos (Krachler *et al.* 2008; Krachler *et al.* 1999).

O Sb está presente em diferentes regiões globais e em diferentes concentrações como é possível observar na Tabela 3. Sabe-se que a atmosfera é um importante meio de análise para se observar o transporte aéreo através das correntes de ar. Essas observações vêm sendo cada vez maiores para se monitorar a concentração de alguns elementos provenientes de fontes antropogênicas. Estudos revelam que em algumas regiões da Europa a exposição e a inalação de recém – nascidos, crianças e jovens a esse metaloide pode chegar a 0,6 µg/dia se inalados 20 m³ de ar por dia (Patriarca *et al.* 2000). Segundo estudos feitos por Patriarca (2000) e colaboradores, a absorção de Sb pelos pulmões é em média de 15% a depender do tamanho das partículas e da solubilidade dos compostos de Sb.

Segundo Krachler e colaboradores (2005) o aumento significativo do Sb no meio ambiente nas últimas três décadas se dá principalmente pela queima de combustíveis fósseis. Aumenta, portanto, a preocupação com esse metaloide, uma vez que a população consumidora desses combustíveis também cresce. Por esse motivo, não é surpreendente que locais urbanos concentrem atualmente a maior quantidade de Sb. Os sedimentos de áreas industriais também têm sido locais de acumulação e próximo a essas regiões a concentração de Sb pode chegar a ser 100 vezes maior que concentração natural (Patriarca *et al.* 2000; Krachler *et al.* 1999).

1.1.3 Toxicidade do antimônio

O Sb pode ocorrer por atividade biológica e vulcanismos por meio natural; e por queima de combustíveis fósseis, atividades de mineração e metalurgia, agricultura no uso de herbicidas, pesticidas e fungicidas (Krachler *et al.*, 1999), utilização na indústria de diferentes setores por meio de vias antropogênicas (Azevedo e Chasin, 2003). A Tabela 4 mostra alguns compostos de antimônio e onde podem ser encontrados.

Tabela 4: Compostos de antimônio mais tóxicos nas formas inorgânicas e orgânicas com suas respectivas fórmulas químicas, algumas aplicações e referências.

Composto	Fórmula	Aplicações	Referência
Trióxido de antimônio (III)	Sb ₂ O ₃	Retardante de chamas; Fabricação de PVC	Filella <i>et al.</i> (2002) <small>Erro! Indicador não definido.</small>
Cloreto de antimônio (V)	SbCl ₅	Fabricação de tintas para aplicação em cerâmica	Filella <i>et al.</i> (2002)
Cloreto de antimônio (III)	SbCl ₃	Fabricação de tintas	Filella <i>et al.</i> (2002)
Dimérico	Sb ₄ O ₆	Arma de fogo	Filella <i>et al.</i> (2002)
Tartarato de antimônio e potássio	C ₈ H ₄ K ₂ O ₁₂ Sb ₂ . 3H ₂ O	Farmacos para tratamentos homeopáticos	Limongi, (1973) e Rath <i>et al.</i> (2003)
Antimonato de bis-catecol-3,5-dissulfonato sódico		Farmacos para tratamento de Leishmaniose	Limongi, (1973) e Rath <i>et al.</i> (2003)
Tioglicolato de sódio e antimônio		Farmacos para tratamento de Leishmaniose	Limongi, (1973) e Rath <i>et al.</i> (2003)

A espécie inorgânica de Sb(III) é mais estável em solução aquosa do que a espécie de Sb (V). Isso ocorre porque ao sofrer hidrólise, o metaloide passa a assumir as seguintes formas: $[Sb^{3+}(OH)_3]$ e $[Sb^{5+}(OH)_6]^{-1}$, sendo assim, o Sb(III) assume uma carga elétrica igual a zero, o que consequentemente é permeável às membranas celulares e poderá se ligar facilmente ao ferro da hemoglobina e inativar sítios ativos de proteínas com funções significativas para os organismos celulares. Isso explica o fato de que pessoas expostas a esse composto poderão ter sérios problemas respiratórios como pneumoconiose associada à doença pulmonar obstrutiva, além de alterações cardíacas, dores abdominais, aumento de pressão arterial, úlceras, dermatoses (ATSDR, 1992); problemas digestivos como irritação da mucosa digestiva gerando com isso, vômitos, hipotermia, hipotensão, salivação, entre outros (Bencze, 1994; Santos, 2006). Alguns sintomas iniciais por intoxicação por Sb podem ser observados, como tontura, dores de cabeça, náusea, diarreia, tosse, redução de libido, dores no peito e náusea (Bencze, 1994).

Em geral, o Sb inorgânico acumula-se, em órgãos vascularizados e tecidos, principalmente dos rins e do fígado, além de ter grande afinidade pelo sangue e pelo baço. Os sais trivalentes, após a absorção, ligam-se aos eritrócitos e têm grande afinidade pelas células, enquanto os sais pentavalentes permanecem livres no plasma, sendo mais rapidamente excretados (Rath *et al.*, 2003). A Figura 2 mostra a hierarquia da contaminação que ocorre no organismo humano quando contaminado com antimônio.

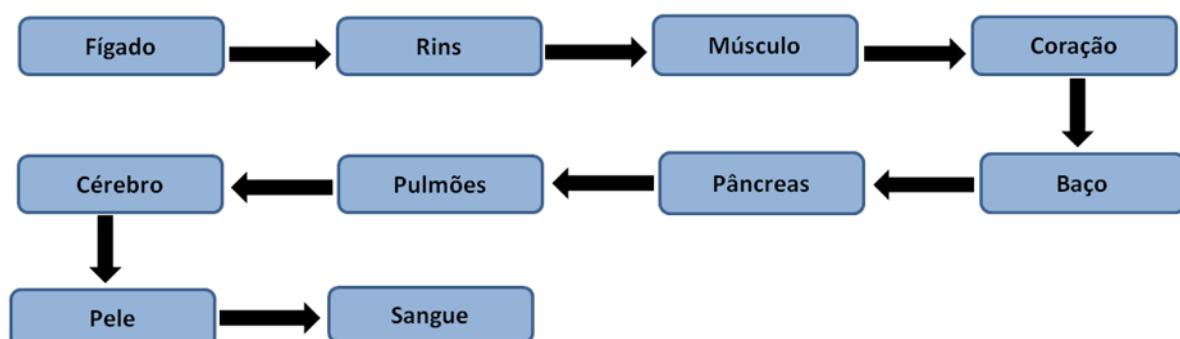


Figura 2: Representação do processo de contaminação por antimônio no organismo humano.

Devido aos conhecimentos restritos da toxicidade exercida pelo antimônio nos diferentes ambientes e alguns estudos feitos sobre os efeitos por envenenamento e intoxicação do Sb, fez-se necessário à criação de legislações ambientais referentes às concentrações máximas permitidas (CMP) em água potável, alimentos, produtos farmacêuticos e etc., uma vez que o antimônio é utilizado para tratamento com leishmaniose (Marsden, 1985; Limonge, 1973). A Agência de Proteção Ambiental norte americana (EPA) considera o Sb e seus compostos como poluidores prioritários (EPA, 2008). A União Européia e o Japão determinaram que a CMP de Sb em água potável seja, respectivamente, igual a $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e menor que $2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (Zheng *et al.*, 2000b). A Organização Mundial de Saúde (OMS, 2003) recomenda que a CMP de Sb em água potável não deve ultrapassar $5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

A Tabela 5 indica os valores máximos para concentrações permitidos de alimentos e amostras de interesse ambiental pelas portarias correspondentes.

Tabela 5: Valores máximos de concentrações exigidas pelas respectivas portarias.

Meio	Sb (mg L^{-1})	Comentário	Referência
Solo^(a)	2,0	Prevenção	CONAMA (420/20019)
	5,0	VI cenário agrícola-APMax	
	10,0	VI cenário residencial	
	25,0	VI cenário industrial	
Água doce	0,005	VM (classes 1 e 2)	CONAMA (357/2005)
Água potável	0,005	VMP - Padrão de potabilidade	Portaria (2914/2011)
Água Subterrânea	0,005	VMP (consumo humano)	CONAMA (396/2008)
Alimentos	0,2	VMP (consumo humano)	ANVISA (Nº 55.871)
Água para consumo humano (tratada)	< 0,003	VMP (consumo humano)	ANVISA (17025/2005)

VMP = Valor Máximo Permitido; VI = Valor de Investigação; * = peso seco; APMax = Área de Proteção Máxima; VM = Valor Máximo. ^(a)valores em mg/kg

1.1.4 Antimônio nas amostras ambientais

Algumas substâncias como o Sb, podem ser eliminadas incorretamente de fontes antrópicas podendo modificar o cenário ambiental, ao longo do seu transporte, e diversos processos físicos, químicos e biológicos podem alterar as formas geoquímicas originais desses elementos (Salomons & Förstner, 1984). Nos ecossistemas aquáticos, o Sb pode ser encontrado dissolvido na água, ou em sua forma iônica, onde, apresenta um comportamento complexo devido à possibilidade de sofrer interações com diversas moléculas (Förstner & Wittman, 1983). Podem também acumular nos sedimentos ou ser incorporados nos organismos aquáticos. A Tabela 6 mostra as principais espécies de antimônio encontradas em diferentes amostras ambientais com seus respectivos estados de oxidação.

Tabela 6: Principais espécies de Sb em amostras ambientais. (Vieira, 2008)

Fase	Espécies de Sb
Sólida	Sb, Sb ₂ S ₃ , Sb ₂ O ₃ , Sb ₂ O ₅
Aquosa (meio óxico)	[Sb(OH) ₆] ¹⁻ , [Sb(OH) ₅] ⁰
Aquosa (meio sub-óxico)	[Sb(OH)3] ⁰
Aquosa (meio sulfuroso)	[H ₂ Sb ₂ S ₄] ⁰ , [HSb ₂ S ₄] ⁻ , [Sb ₂ S ₄] ²⁻
Gasosa	[SbH ₃] ⁰ , [Sb(CH ₃) ₃] ⁰

O ecossistema aquático é considerado o mais suscetível à poluição e contaminação (Bertoletti, 1990). A poluição aquática está comumente associada com a descarga de efluentes domésticos, industriais ou agrícolas (Mason, 1996) e pode ocorrer de forma intencional ou acidental, a partir de fontes naturais ou em decorrência da atividade humana (Jobling, 1995).

Dante das diferentes toxicidades do antimônio que consequentemente variam com os estados de oxidação e com o intuito de avaliar as concentrações de Sb presentes em amostras de água foi feito uma revisão bibliográfica apresentada na Tabela 7 com trabalhos que visaram à determinação de Sb por

métodos espectrométricos em diferentes amostras aquosas, uma vez que ao longo do tempo o Sb disponível nesses ambientes é acumulado em algas e crustáceos.

Tabela 7: Determinação de antimônio em diferentes amostras de água.

Amostra	Elemento	Concentração Encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
Águas não poluídas	Sb total	<1	Zheng <i>et al.</i> , (2000a)
Água mineral	Sb(III)	0,39	Depoi e Pozebon (2012)
Águas naturais	Sb(III), Sb(V) e metilantimônio	0,001, 0,0012 e 0,1	Andreae <i>et al.</i> , (1981)
Águas residuais	Sb(III), Sb(V)	5 , 50	Nakahara e Kikiu, (1985)
Água de mar/água de rio	Sb(III)	0,2	Ding e Sturgeon (1996)
Água da torneira	Sb total	1,0	Chen <i>et al.</i> , (1996)
Água de mar	Sb total	2,2	Santosa e Tanaka, (1997)
Água da torneira	Sb total	0,2	Garbós <i>et al.</i> , (1998)
Gelo das Ilhas Faroe^(a)	Sb total	1530	Shotyk <i>et al.</i> , (2008)
Águas poluídas	Sb total	Até 100	Zheng <i>et al.</i> , (2000b)
Rio Amazonas	Sb total	0,03	Cutter <i>et al.</i> , (2001)
Águas de região de mineração	Sb total	90,0 – 75,0	Serfor-Armah <i>et al.</i> ,(2006)

^(a)Valores em ng g^{-1}

Nas regiões que possuem água poluída o Sb é encontrado de forma significativa em concentração de até $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (Zheng *et al.*, 2000), enquanto que em regiões não poluídas a concentração de Sb diminui segundo Zheng *et al.*, (2000), para valores menores que $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Em amostras de água do mar também é possível notar que as concentrações de Sb são bastante baixas na ordem de ng mL^{-1} em áreas também não poluídas segundo Santona e Tanaka, (1997). O monitoramento de Sb é importante nessas matrizes, uma vez que ao longo do tempo essa concentração aumenta a medida que se caminha no nível trófico (Andreae *et al.*, 1981).

Os sedimentos podem ser transportados por fluidos como a água, o gelo ou o vento ao longo do tempo. Portanto, matérias orgânicas, dejetos e outras substâncias, tanto de fonte natural quanto de fonte antropogênica, vão sendo depositadas e acumulando sobre os sedimentos. Por isso, os sedimentos são matrizes de interesses para estudos de monitoramento ambiental. A Tabela 8 relaciona algumas matrizes sólidas de cunho ambiental com suas respectivas quantidades de Sb encontradas. As partículas sólidas nos ambientes aquáticos possuindo mobilidade podem ser capturadas pelos organismos presentes nos ambientes marinhos ou serem depositadas nos sedimentos de através dos mesmos (Amado *et al.*, 2008).

Tabela 8: Determinação de Sb total em diferentes amostras de sedimentos.

Amostra	Concentração encontrada	Referência
Solo em área de mineração	$139 - 793 \text{ mg kg}^{-1}$	Baroni <i>et al.</i> , (2000)
Sedimentos de região de mineração	$8,5 - 90,4 \text{ mg g}^{-1}$	Serfor-Armah <i>et al.</i> , (2006)
Solos japoneses	$0,83 \pm 0,32 \text{ mg kg}^{-1}$	Hou <i>et al.</i> , (2006)
Solos poloneses	$0,81 \pm 0,16 \text{ mg kg}^{-1}$	Loska <i>et al.</i> , (2004)

Observa-se na Tabela 8 que áreas de mineração são susceptíveis a quantidades significativas de antimônio caracterizando-se como uma área de risco, uma vez que o metaloide acumula-se nos organismos vivos podendo gerar problemas de saúde por sua contaminação.

1.1.4.1 Biomarcadores de Sb

O impacto que o meio ambiente vem sofrendo de modo geral por fontes antropogênicas tem aumentado muito nos últimos anos provenientes de atividades agrícolas e grande industrialização aliada ao forte crescimento populacional (Santoyo *et. al.*, 2000; Förstner e Wittmann, 1981). Consequentemente, aumenta também os riscos de poluição, principalmente no meio aquático.

Segundo Walker *et al.* (1996), os biomarcadores são definidos como alterações biológicas ao nível molecular, celular, fisiológico ou comportamental, que expressam a exposição e os efeitos tóxicos dos poluentes presentes no ambiente, apresentando um grande potencial para uma real compreensão dos efeitos dos poluentes nos componentes biológicos. Por serem frequentemente os primeiros a sofrer alteração, devido à grande suscetibilidade, boa sensibilidade e relativa especificidade, os biomarcadores são considerados recursos úteis em programas de monitoramento, detectando precocemente alterações ambientais (Filho *et al.*, 2001a).

A avaliação da contaminação por elementos que em concentrações elevadas são tóxicas em ambientes aquáticos, pode ser realizada pelo uso de biomarcadores que absorvem os contaminantes na forma dissolvida, dissolvida/suspensa presentes na água e incorporada aos sedimentos, pois esses organismos, como, por exemplo, alga e crustáceos acumulam diferentes substâncias em diferentes concentrações.

O antimônio, uma vez presente em águas e sedimentos de um local, possivelmente vai se acumular também em organismos celulares. O Sb poderá estar presente na forma inorgânica e mais provável em sua forma pentavalente

nos organismos celulares, uma vez que este é encontrado em ambientes aeróbios.

As algas e crustáceos podem ser consideradas biomarcadores para o Sb em locais poluídos. Isso ocorre porque esses organismos são capazes de reter compostos químicos e podem sofrer mutações visíveis ou não, alterando assim toda a dinâmica dos diversos ecossistemas ligados a ele (Daby, 2006).

As algas presentes em águas poluídas geralmente são tóxicas e se multiplicam rapidamente. Este processo provoca um aumento exagerado em seu número e, consequentemente, um sério desequilíbrio no ecossistema (Pereira, 2004). Além da sua importância para o equilíbrio do planeta, as algas são usadas também como fertilizantes, adubos, suplemento de alimentos, fármacos e fabricação de cosméticos (sabonete, pasta de dente, shampoos entre outros). Na Tabela 9 é possível observar quantidades encontradas de Sb em diferentes plantas localizadas em ambientes distintos.

Tabela 9: Determinação de antimônio em diferentes amostras ambientais.

Amostra	Elemento	Concentração		Referência
		Encontrada	($\mu\text{g g}^{-1}$)	
Alga^(a)	Sb (III)	0,8		Miekeley, (2001)
	Sb (V)	0,3		
Alga^(a)	Sb (III)			Miekeley, (2001)
	Sb (V)	0,2		Krachler e Emons (2001)
Folhas de áreas com intenso tráfico	Sb total	Até 0,0589		Emons <i>et al.</i> , (1999)
	Sb total	Até 0,0153		Emons <i>et al.</i> , (1999)
Algas marinhas	Sb total	0,1-0,2 massa seco		Filella <i>et al.</i> , (2007)
<i>L. johnstonii</i> (alga marinha)	Sb total	0,12 massa seco		Sánchez-Rodrigues <i>et al.</i> , (2001)
<i>P. durvillaei</i> (alga marinha)	Sb total	0,19 massa seco		Sánchez-Rodrigues <i>et al.</i> , 2001
Raízes de <i>P. laceolata</i> (planta terrestre em área de mineração)	Sb total	0,015		Baroni <i>et al.</i> , (2000)
Folhas de <i>A. ageratum</i> (planta terrestre em área de mineração)	Sb total	0,014		Baroni <i>et al.</i> , (2000)

^(a)Valores em $\mu\text{g L}^{-1}$

É possível observar na Tabela 9 que muitas algas são capazes de sobreviver em áreas altamente poluídas e por serem resistentes podem ser utilizadas para monitoramento ambiental.

Os crustáceos também vêm sendo apontados como eficientes biomarcadores devido à sua importância ecológica, uma vez que são importantes recursos alimentares, especialmente para peixes (Tararam e Wakabara, 1983; Zamprogno, 1989; Dubiaski, 1999; Brito, 2013) e apresentam, representatividade numérica, reduzida mobilidade e sensibilidade a vários elementos como o Sb. Uma revisão é feita na Tabela 10 para se observar a concentração de Sb em organismos aquáticos.

Tabela 10: Valores de concentração de antimônio em diferentes amostras de animais aquáticos.

Amostra	Concentração encontrada ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Referência
Tecido de ostra	2,8	Oliveira <i>et al.</i> , 1983
Pele de peixe	0,001	
Barbatana de peixe	0,012	
Músculo de peixe	0,008	Pachadzhianov <i>et al.</i> , 2009
Esqueleto de peixe	0,006	
Brânquias de peixe	0,003	

É notável que na Tabela 10 o Sb pode estar inserido nesses animais acumulando-se em diversas regiões do animal e nota-se concentrações mais elevadas na região dos tecidos das ostras (Oliveira *et al.*, 1983). Isso ocorre porque o tecido está mais em contato com a água e o sedimento dispostos no ambiente, sendo o principal meio de contato com esses animais.

Sabendo da importância do monitoramento de regiões que são poluídas ou próximas a atividades industriais que podem vir a acarretar problemas ambientais com seus descartes indevidos é que se analisou amostras de cunho

ambiental como sedimentos e água, além de algas e crustáceos, sendo estes biomarcadores ambientais usados para avaliar a região de Ubatuba –SP. Esta região é turística e bastante explorada por indústrias e atividades costeiras como a pesca, além de ser um local com relativa densidade demográfica.

1.2 Técnicas espectroanalíticas para determinação de Sb

Diversos métodos são propostos para determinação de Sb dentre os quais se destacam os métodos espectrométricos atômicos.

Nas várias técnicas de espectroscopia atômica o princípio básico segue com a atomização da amostra, convertendo-a em átomos e íons em fase gasosa (Skoog, West e Holler, 1996). Podem-se observar dois grupos distintos: a espectrometria atômica óptica e a espectrometria de massas atômicas. Nas técnicas instrumentais, evidentemente, apresentam características distintas, o que requer um estudo prévio para a escolha do melhor instrumento. As técnicas espectroanalíticas, mesmo sendo bastante utilizadas para determinação de metais a nível traço, se fazem necessário, a depender do tipo de amostra e analito de estudo, que se tenham métodos com maiores limites de detecção e quantificação. Sendo assim, muitas técnicas espectrométricas utilizam tratamento prévio da amostra em bancada ou podem utilizar hiferações de técnicas para aumentar a sensibilidade e a seletividade na determinação. A geração de hidretos é uma técnica que se utiliza acoplada as técnicas espectroanalíticas quando se tem a finalidade de determinar elementos que formam hidretos voláteis.

1.2.1 Sistema de Geração de Hidretos

A técnica de geração de hidretos para determinar metais começou a ser utilizada em 1969, quando foi publicado um artigo descrevendo as condições adequadas para determinação de As por AAS (Holak, 1969). Desde então as

determinações foram estendidas para Bi, Ge, Pb, Sn, Sb, Te e Se (Takas *et al.*, 2002).

Somente alguns anos depois, com um procedimento alternativo, utilizando um tubo de quartzo em forma de T, colocado no caminho óptico para evitar a absorção de parte da radiação primária da chama e aumentar o tempo de residência do hidreto na célula de absorção, é que, houve uma melhoria considerável do limite de detecção (Kalihne, *et al.*, 1997; Campos *et al.*, 2002).

A técnica de geração de hidretos baseia-se na conversão da espécie de interesse em hidretos covalentes gasosos que, por meio de um gás de arraste, são transportados à cela de atomização, para dissociação térmica em seus átomos (Takas *et al.*, 2002; Passos *et al.*, 2012). O sistema de HG melhora a sensibilidade na detecção do elemento, e é composto por: um separador gás-líquido, uma cela de atomização e um gás de arraste como mostra a Figura 3. Essa técnica produz duas fases bem distintas: a líquida (matriz) e, após a adição do agente redutor, o vapor do elemento de interesse é desprendido da matriz. Após a separação das fases, a matriz residual é drenada para um descarte, enquanto o vapor é transportado pelo gás de arraste até a cela de quartzo. Nesta cela, os componentes do vapor são atomizados e absorvem a radiação no seu comprimento de onda. Esse sistema não utiliza introdução por nebulizador, o que aumenta as medidas de absorbância, melhorando o limite de detecção.

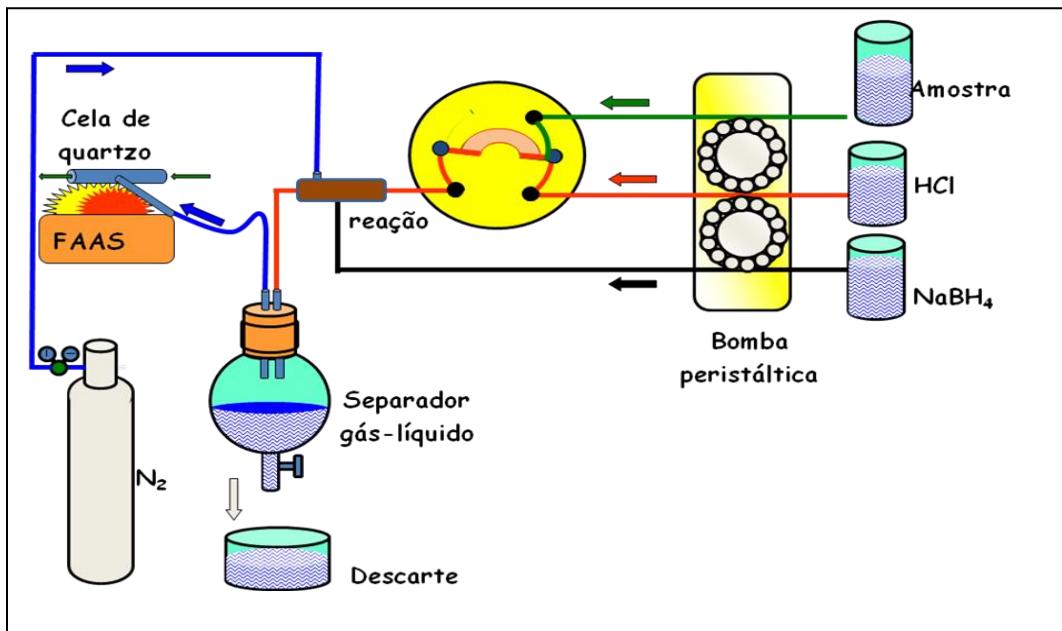
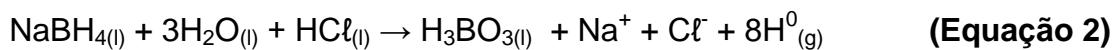


Figura 3: Esboço do sistema de Geração de Hidretos acoplado ao Espectrômetro de Absorção atômica com Chama.

No separador gás-líquido uma solução redutora, como o borohidreto de sódio (NaBH_4) é utilizada. As equações a seguir representam as reações de redução que ocorrem durante o processo de redução (Moreira , 1994; Passos et al., 2012; Thompson e Thomerson, 1974):



Onde m pode ser ou não igual a n e X é o elemento de interesse

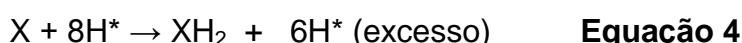
1.2.2 Transporte do Hidreto ao Atomizador

No sistema de geração de hidretos, o hidreto gerado pode ser transportado seguindo duas rotas:

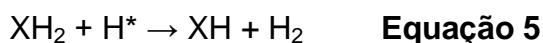
- 1) Para a cela de atomização: as espécies voláteis são transportadas diretamente para o atomizador (transporte direto);
- 2) As espécies voláteis são retidas em uma armadilha, colocada entre o frasco de reação e o atomizador, até que o processo tenha se completado.

A transferência em coleta não é recomendada para hidretos muito instáveis, além da desvantagem dos procedimentos consumirem maior tempo de análise e correr o risco de maior contaminação. (Passos, 2011)

Nas equações 4, 5 e 6, o mecanismo da atomização do hidreto em um tubo de quartzo eletricamente aquecido é decorrente das colisões entre as moléculas de hidreto e radicais hidrogênio gerados, sendo o oxigênio necessário para que os processos ocorram a baixas temperaturas. A reação dos radicais hidrogênio com as espécies de interesse é mostrada abaixo (Welz e Melcher, 1983):



O hidreto gerado na equação 4 é transportado ao atomizador juntamente com o excesso de radicais hidrogênio, para que através de colisões de radicais livres com o hidreto, ocorra a formação dos átomos de Sb, sendo a quantidade de Sb formada proporcional ao número de colisões. As equações 5 e 6 apresentam as reações que podem ocorrer (Dedina e Matousek, 2000; Welz e Melcher, 1983):



Embora a atomização do hidreto seja observada, seu mecanismo exato de atomização ainda não é claro e necessita de mais estudos para elucidar melhor a ocorrência das reações (Kula, et al., 2008).

1.2.3 Interferências no Método de Geração de Hidretos

A Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS) é uma técnica muito empregada na determinação de metais a nível traço. Contudo, alguns elementos como o antimônio são muito voláteis e, consequentemente, a sua determinação pela nebulização direta da solução em uma chama de acetileno ou hidrogênio-argônio é dificultada (Matsubara, 2011; Haygarth et al., 1993). Assim, a introdução de um sistema como o gerador de hidretos torna-se

necessária, pois este aumenta a sensibilidade da técnica e diminui interferências, pois o Sb absorve radiação de comprimento de onda muito baixo e, desta forma, propicia à absorção de outros gases.

O fator de interferência, FI, é definido por:

$$FI = A'/A \quad (\text{Equação 7})$$

Onde A' é o valor do sinal analítico relativo à solução de Sb(III) na presença do possível interferente, e A é o sinal analítico relativo à solução do analito na ausência do possível interferente.

Na Tabela 13 é possível observar os valores do fator de interferência. Na equação 7 quando $FI = 1,00$ significa que não há interferência, enquanto fatores maiores que 1,10 ou menores que 0,90 indicam um aumento ou um decréscimo do sinal analítico devido ao interferente.

Uma vez que no sistema de geração de hidretos o analito é liberado da matriz devido à formação do hidreto volátil, diversas interferências de matriz podem ser minimizadas no processo de geração do hidreto. No entanto, podem ocorrer outras interferências como absorção de fundo, presença de compostos em amostras biológicas e ambientais, diferentes estados de oxidação de um mesmo elemento presente na amostra, além dos elementos que geram ou não os hidretos (Dedina e Matouzek, 2000; Passos, 2011). Tais interferências estão divididas em duas fases:

1) Fase líquida,

2) Fase gasosa.

A interferência na fase líquida está relacionada com a reação de geração do vapor e envolve a não disponibilização do hidreto pela presença de um concomitante que o retenha ou modifique, como também está relacionada com possibilidade de alguns elementos estarem em solução em dois estado de oxidação, por exemplo, Se(IV)/Se(VI), Te(IV)/Te(VI), As(III)/As(V) e Sb(III)/Sb(V), mudando a cinética da reação, já que os estados de oxidação mais altos apresentam velocidade de redução mais lenta (Kumar e Riyazzudin, 2010).

Pode ocorrer também interferência da matriz em casos de digestão de amostras com ácidos oxidantes como o HNO₃ e HF. Os ácidos oxidantes podem interferir na etapa de formação dos hidretos, diminuindo o poder redutor do borohidreto de sódio (Passos, 2011).

A interferência na fase gasosa ocorre na etapa de geração do hidreto, nos tubos de condução e também no atomizador. Esta interferência pode ser devido ao transporte do hidreto para o atomizador, causando decréscimo ou perda do sinal analítico, como também, interferência durante a atomização, que ocorre na presença de radicais de hidrogênio, acarretando tanto alteração na população dos radicais livres, como diminuição dos átomos livres do analito, por causa das suas reações com o interferente na fase gasosa.

Os processos para eliminar ou minimizar o efeito de interferentes são importantes para o desenvolvimento de um método de análise. O uso de agentes pré-redutores ou agentes mascarantes tem sido estudado para controlar estas interferências. Os mascarantes mais comumente utilizados são L-cisteina e a tiouréia para arsênio, antimônio, bismuto, germânio e estanho (Kalihne *et al.*, 1997).

Li e Guo (2005) relataram que a tiouréia como agente mascarante, em altas concentrações, pode eliminar ou minimizar interferências causadas por elementos como o Fe, Cu e Ni, sem diminuir a sensibilidade analítica. Ainda os mesmos autores destacaram que para estudar o efeito dos mascarantes para remoção de metais de transição, não se deve levar apenas em consideração as propriedades e concentrações, mas também o modo de adição.

A Figura 4 demonstra as etapas e os elementos que podem ser determinados pela técnica de geração de hidretos acoplado à absorção atômica com chama.



Figura 4 – Representação das etapas de HG associadas à detecção por AAS

A utilização da espectrometria de absorção atômica acoplada à técnica geração de hidretos (HG AAS) é, portanto, uma técnica analítica viável, pois o analito é separado da matriz em razão da formação do hidreto volátil, além de ser uma técnica bem estabelecida, sensível e simples utilizada pelos órgãos que regulamentam quantidades de Sb em diferentes matrizes. Assim, muitas interferências de matriz podem ser minimizadas no processo de geração do hidreto.

1.2.4 Métodos para determinação seletiva de Sb

As dificuldades relativas para a determinação de elementos traços, devido à influência da matriz e a baixa concentração do analito, impõem a necessidade do desenvolvimento de métodos extremamente sensíveis e seletivos para a determinação de Sb.

O método para a determinação de antimônio é geralmente escolhido de acordo com a sensibilidade, a seletividade, a eficiência e a rapidez. Um dos métodos mais utilizados para determinação de antimônio é a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) acoplada a geração de hidretos (HG). Porém outras técnicas também utilizam o HG para aumentar a sensibilidade da técnica e minimizar interferentes. A Tabela 11 apresenta trabalhos que descrevem a determinação de Sb em amostras de água utilizando a geração de hidretos acoplado a diferentes técnicas espectroscópicas. Ainda na Tabela 11 observa-se que ocorre uma hifernização de técnicas para melhorar a sensibilidade na determinação do sinal analítico. Porém, as técnicas espectrométricas não são suficientes para se separar as espécies de um mesmo elemento, fazendo-se necessário o desenvolvimento de metodologia para diferenciar um mesmo elemento em estados de oxidação diferentes.

Tabela 11: Determinação de antimônio em amostras de água utilizando geração de hidretos (HG) acoplada a diferentes técnicas.

Amostra	Elemento	Técnica	Referência
Água mineral	Sb (III)	HG ICP OES	Depoi e Pozebon (2012)
Águas naturais	Sb (III), Sb (V) e metilantimônio	HG F AAS	Andreae <i>et al.</i> , (1981)
Águas residuais	Sb (III), Sb (V)	HG ICP OES	Nakahara (1981)
Água de mar/água de rio	Sb total	HG ET AAS	Ding e Sturgeon (1996)
Água da torneira	Sb total	HG ICP-MS	Chen <i>et al.</i> , (1996)
Água do mar	Sb total	HG ICP-MS	Santosa e Tanaka, (1997)
Água da torneira	Sb total	HG ET AAS	Garbós <i>et al.</i> , (1998)

Sabendo que o Sb possui estados de oxidação e toxicidades diferentes se fazem necessário o desenvolvimento de métodos que permitam a diferenciação das espécies. Algumas matrizes ambientais apresentam uma série de desafios analíticos na separação de espécies para estudos para especiação de Sb. Estudos de especiação de Sb a nível traço foi relatado por Zang *et al.*, (2007) usando TiO_2 para adsorver as espécies inorgânicas de Sb em águas naturais e com o sólido do filtrado foi preparada uma suspensão e por fim determinado Sb total por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS). Para Sb(III), suas espécies inorgânicas foram coprecipitados com chumbo complexado com pirrolidina ditiocarbamato (Pb-PDC) e posteriormente dissolvido em HNO_3 com determinação no ET AAS. As concentrações de Sb(V) foram feitas por diferença. Já Perez-Corona *et al.*, (1997) determinaram Sb(III) e Sb(V) utilizando leveduras a uma temperatura de incubação de 60°C a um pH igual 7 onde o Sb(III) liga-se a células dessas leveduras, enquanto o Sb(V) não mostra nenhuma afinidade com as leveduras nestas condições. Portanto o Sb(III) e o Sb total é determinado por HG AAS e o Sb(V) quantificado por diferença do Sb. Outro método para determinação das espécies inorgânicas de

Sb foi desenvolvido por Fan em 2005 onde uma gota de clorofórmio com N-benzoil-N-fenilhidroxilamina (BPHA) foi utilizado para extrair Sb(III) em amostras de água mineral com determinação em ET AAS. O teor de Sb total foi determinado pela pré-redução de Sb(V) a Sb(III) antes da extração, sendo a concentração de Sb(V) subsequentemente calculada subtraindo a concentração de Sb(III) a partir da concentração total de Sb. Outro método desenvolvido por Fan em 2005 para especiação de Sb em amostras de águas residuais e água do mar artificial foi feito utilizando extração no ponto nuvem (CPE) como etapa de separação e pré-concentração. No desenvolvimento do método um complexo de Sb(III) é formado durante a etapa do ponto nuvem com o reagente N-benzoil-N-penihidroxilamina (BPHA) entrando na fase rica, enquanto que o de Sb (V) permanece na fase aquosa . O Sb(III) na fase rica em surfactante foi analisado por F AAS e Sb(V) foi calculado subtraindo Sb(III) a partir do total de Sb, depois reduzido de Sb(V) a Sb(III) por L-cisteína e posteriormente determinado por F AAS. Cava-Montesinos e colaboradores em 2003 desenvolveu um método para determinar as espécies de Sb inorgânico em amostras de águas naturais utilizando complexação com ditiocarbamato de amónio (APDC) em pH 1 para Sb(III) e recolhidos na parede do reator na presença de Sb(V). A eluição do complexo foi feito com HCl 1,5 mol L⁻¹. Por fim para a detecção por Geração de Hidretos acoplada a Espectrometria de Fluorescência Atômica (HG AFS) foi utilizado o redutor KBH₄. A concentração total de Sb inorgânico foi obtida com a pré-redução de Sb(V) com L-cisteína em meio ácido e posteriormente para a quantificação de Sb(V) foi feita uma subtração do total.

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver um método para determinação de Sb(III) e Sb total com detecção utilizando geração de hidretos acoplada à espectrometria de absorção atômica com chama.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Desenvolver um método para determinação de Sb(III) e Sb total utilizando Geração de Hidretos acoplado a um Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama com redução em linha do Sb(V) empregando o NaBH₄ como agente redutor.
- ✓ Otimizar as variáveis para a metodologia de geração de hidretos: vazão do HCl, NaBH₄ e amostra; concentração do HCl e NaBH₄.
- ✓ Aplicar o método desenvolvido para determinação de Sb(III) e Sb total em amostras de diferentes matrizes com preparo de amostra já estabelecidos.
- ✓ Determinar Sb em amostras ambientais como água e sedimentos e em amostras que podem ser consideradas biomarcadores ambientais como algas e crustáceos.

CAPÍTULO 3: PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Instrumentação

Todas as determinações foram feitas em Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama Modelo SpectrAA-220 (Varian®, Victoria, Austrália) equipado com acessório de Gerador de Hidretos modelo VGA 77 (Varian®, Victoria, Austrália), onde foi usado a vazão do gás de arraste (N_2) de 100mL min⁻¹.

O sistema de Gerador de Hidretos é composto por uma bomba peristáltica, para a introdução das soluções e da amostra no separador gás-liquido. As soluções de $NaBH_4$, HCl e as amostras contendo Sb são introduzidas pela bomba em diferentes linhas e posteriormente se encontram em uma bobina de reação onde as soluções entram em contato e reagem. Nesse momento a estibina é formada (SbH_3) se desprendendo da matriz na forma de gás e levada pelo gás de arraste (N_2) até a cela de quartzo que fica sob a chama de acetileno do FAAS para atomização. A parte da amostra líquida é drenada para o descarte. A Figura 5 apresenta o esquema geral do sistema para determinação de Sb(III) e Sb total.

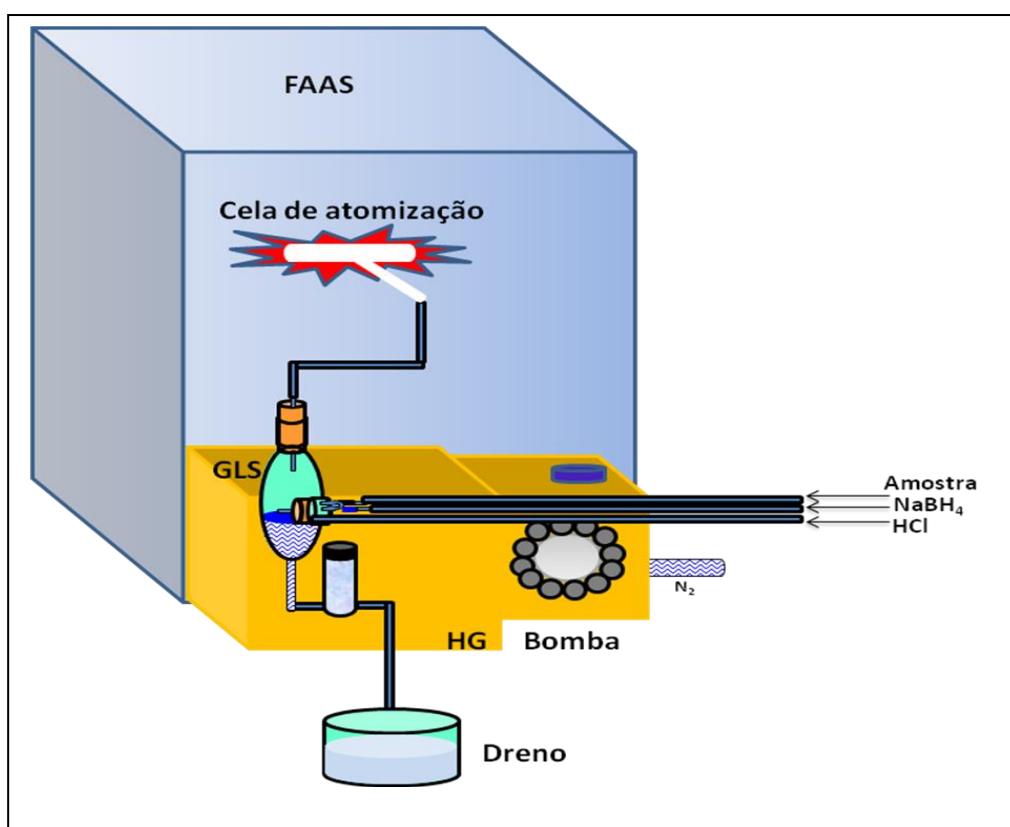


Figura 5. Esboço do sistema utilizado para a determinação e especiação de Sb(III) e Sb total. Modelo do FAAS SpectrAA-220 (Varian®, Victoria, Austrália); modelo do HG VGA 77.

O Espectrômetro de absorção atômica utiliza:

- ✓ Lâmpada de catodo oco de Sb – marca Varian®, Victoria, Austrália; comprimento de onda da lâmpada 217,6 nm.
- ✓ Chama de ar-acetileno.
- ✓ Um microcomputador equipado com o software do fabricante para visualização das absorbâncias.

O sistema de geração de hidretos é constituído de:

- ✓ Bomba peristáltica Gilson® Minipuls 3 (Villiers Le Bel, França) equipada com 8 canais.
- ✓ Tubos Tygon® de polietileno.
- ✓ Cilindro de 10 m³ de nitrogênio.
- ✓ Cela de quartzo em formato de T (13,5 cm de comprimento e 15 mm de diâmetro externo) aquecida em chama.

3.2. Reagentes e Soluções

Todas as soluções utilizadas no desenvolvimento desse trabalho foram preparadas com reagentes químicos de grau analítico, utilizando água deionizada, proveniente de um sistema de purificação de água Milli-Q® da Gehaka, (São Paulo, Brasil)

As soluções de trabalho de Sb(III) foram preparadas diariamente a partir de uma solução padrão (1000 mg L^{-1}) de SbCl_3 em meio de HCl (Tec-Lab, Brasil). Para o Sb(V), as soluções de trabalho foram preparadas a partir da solução padrão (1000 mg L^{-1}) de SbCl_5 (Sigma Aldrich, Estados Unidos) com grau de pureza de 99,0%.

Soluções do agente redutor foram preparadas pela dissolução de NaBH_4 (Merck, Alemanhã) utilizando estabilizante, NaOH 0,5% (m/v) (Vetec, Brasil).

As soluções dos três pré-redutores utilizados, foram preparadas pela dissolução de: L-cisteína (Synth, Brasil) em água, KI (Vetec) em água e Tiouréia (Synth) em HCl 1% (v/v).

3.3 Figuras de Mérito

A linearidade, que é a capacidade de um método analítico gerar sinais proporcionais à concentração de uma substância em análise, é avaliada através da análise de padrões que abrangem a faixa de concentração de interesse gerando uma curva de calibração. O coeficiente de correlação da reta gerada pela curva de calibração deve ser igual ou maior de 0,999 (IUPAC, 2011).

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida.

De acordo com a IUPAC (Mendes, 2011), o LD deve ser determinado dividindo o valor correspondente a três vezes o desvio padrão do sinal analítico do branco, obtido a partir de 10 medidas, pela inclinação da curva analítica.

$$LD = \frac{3 S_b}{b} \quad (\text{Equação 8})$$

Para calcular o LQ divide-se o valor correspondente a dez vezes o desvio padrão do branco pela inclinação da curva analítica.

$$\frac{LQ = 10S_b}{b} \quad (\text{Equação 9})$$

Matematicamente, a precisão pode ser expressa pelo desvio padrão relativo, RSD% (ou coeficiente de variação), o qual é calculado pela razão entre o desvio padrão de várias medidas em uma determinada concentração (S_c) e a média dessas medidas (X_c), geralmente em percentagem.

$$RSD\% = \left(\frac{S_c}{X_c} \right) \cdot 100 \quad (\text{Equação 10})$$

Os testes de exatidão do método desenvolvido para a concentração de Sb(III) e Sb total foram executados em amostras de água mineral comercial.

A exatidão do método proposto para determinação de Sb(III) e Sb total foi verificada a partir da análise de amostras de água mineral, fortificadas com solução padrão de Sb(III) e Sb(V) de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Os testes de recuperação foram realizados pelo método da adição padrão.

O teste de recuperação é especialmente apropriado quando a composição da amostra é desconhecida ou complexa e afeta o sinal analítico. Na adição padrão, quantidades conhecidas do elemento de interesse são adicionadas à amostra desconhecida. A partir do aumento do sinal, deduzimos quanto deste elemento estava presente na amostra original, desta forma, sendo

o sinal diretamente proporcional à concentração do elemento de interesse (Harris, 2008), tem-se que a Equação 11:

$$\frac{\text{Concentração do analito na solução inicial}}{\text{Concentração do analito mais o padrão na solução final}} = \frac{\text{Sinal da solução inicial}}{\text{Sinal da solução final}}$$

3.4. Amostras

3.4.1 Procedimentos de Coleta das amostras de água, algas, crustáceos, sedimentos e água mineral

Foram analisadas amostras de água mineral obtidas no comércio da cidade de Uberlândia e feito recuperação nas amostras. As amostras de água de mar, algas, sedimento e crustáceos coletadas para este trabalho foram realizadas em três pontos de amostragem ao longo da região costeira do município de Ubatuba, litoral norte do estado de São Paulo, nas praias de Fortaleza ($23^{\circ} 31' S$; $45^{\circ} 09' W$), Itaguá ($23^{\circ} 27' S$, $45^{\circ} 02' W$) e Lamberto ($23^{\circ} 29' S$; $45^{\circ} 06' W$) (Figura 6). Os locais foram selecionados, de modo que abrangessem áreas com diferenças quanto à presença antrópica, incluindo desde regiões menos alteradas como a Praia de Fortaleza, até regiões próximas a marinas como a Praia de Lamberto e com intensa liberação de esgotos como a Praia de Itaguá. A escolha do local das coletas foi baseada nas mudanças locais das últimas décadas que a região sofreu e vem sofrendo e por ser uma área turística. As regiões de estudos na região de Ubatuba – SP podem ser observadas na Figura 6, onde as setas indicam as praias onde as coletas foram realizadas.

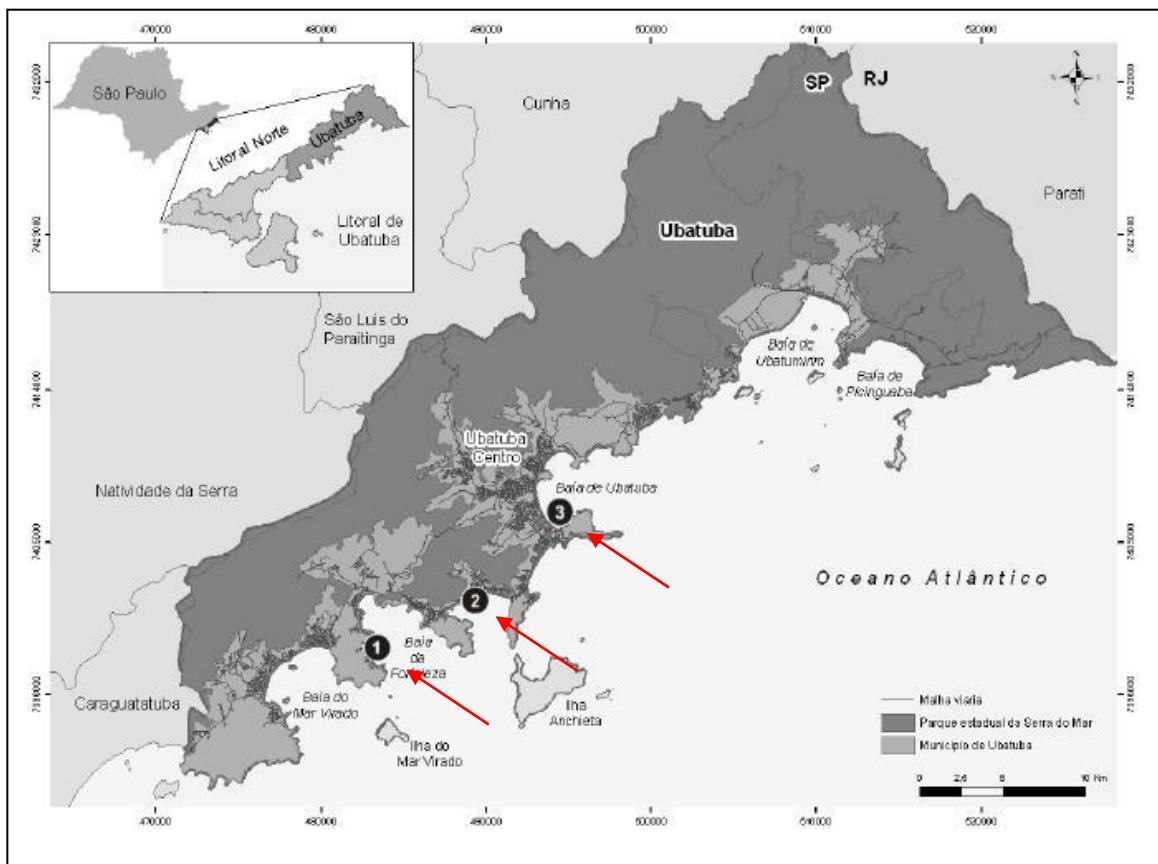


Figura 6. Localização da área de estudo com indicação dos pontos de coleta no município de Ubatuba, litoral norte do estado de São Paulo: 1- Praia da Fortaleza; 2- Praia do Lamberto; 3- Praia de Itaguá. (Mapa adaptado de ROCHA *et al*, 2010).

A coleta teve a orientação do grupo de pesquisa do laboratório do Instituto de Biologia (LAQUA) da Universidade Federal de Uberlândia da qual forneceram a maior parte das amostras. As amostras sólidas foram coletadas com auxílio de espátulas e tanto as amostras sólidas quanto as de água do mar foram colocadas em tubos devidamente descontaminados com ácido nítrico 10% (v/v). As coletas foram realizadas no período da manhã em dias consecutivos e foram realizados um total de quatro coletas, nos meses de outubro e novembro de 2012 e em abril e novembro de 2013, em cada ponto amostral como apresentado na Figura 7, sendo a (A) Praia de Fortaleza, a (B) Praia do Lamberto e (C) Praia da Itaguá. A Figura 7 representa a vista geral das praias onde foram realizadas as coletas na cidade de Ubatuba, no estado de São Paulo.

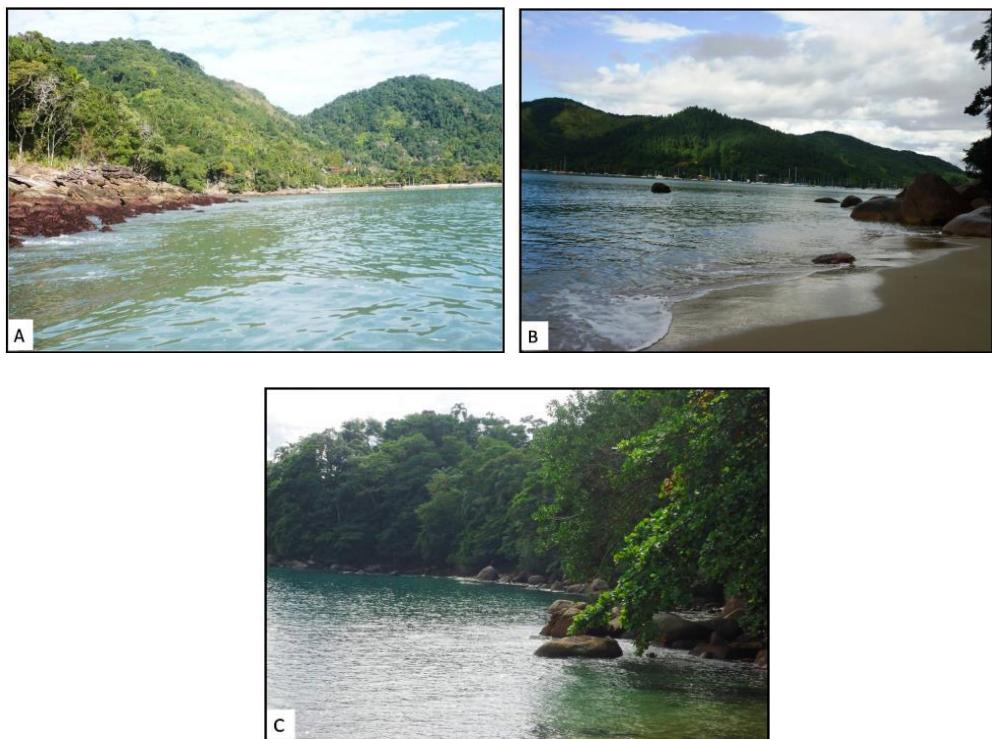


Figura 7. Vista geral dos locais onde foram realizados os estudos no município de Ubatuba: A- Praia da Fortaleza; B- Praia do Lamberto; C- Praia de Itaguá.

3.4.2 Preparo das amostras

Todas as amostras foram analisadas em triplicata e preparadas no laboratório de Espectroscopia Analítica – LEA da Universidade Federal de Uberlândia.

3.4.2.1 Algas e crustáceos

Depois de realizada a coleta, as algas e os crustáceos foram mantidos em freezer, sob temperatura de aproximadamente -20 °C. Inicialmente, para a obtenção da massa seca, as amostras foram liofilizadas a -60 °C durante 72 horas. Em seguida, a abertura das amostras foi feita com base na metodologia empregada por Roberts *et al.*,(2006).

É observado na Figura 8 o passo-a-passo do procedimento analítico, sendo descrito da seguinte forma apresentada: em uma balança analítica foi pesado, separadamente, aproximadamente 0,5 g do crustáceo e 0,5 g das algas já liofilizados, em seguida a massa foi transferida para um tubo de ensaio, onde

foram adicionados 5,00 mL de ácido nítrico concentrado (HNO_3 , 65%); 2,00 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e 3,00 mL de água ultra pura. Em seguida, as amostras foram aquecidas em um bloco digestor a uma temperatura de 90 °C durante 3h (Roberts *et al.*, 2006).

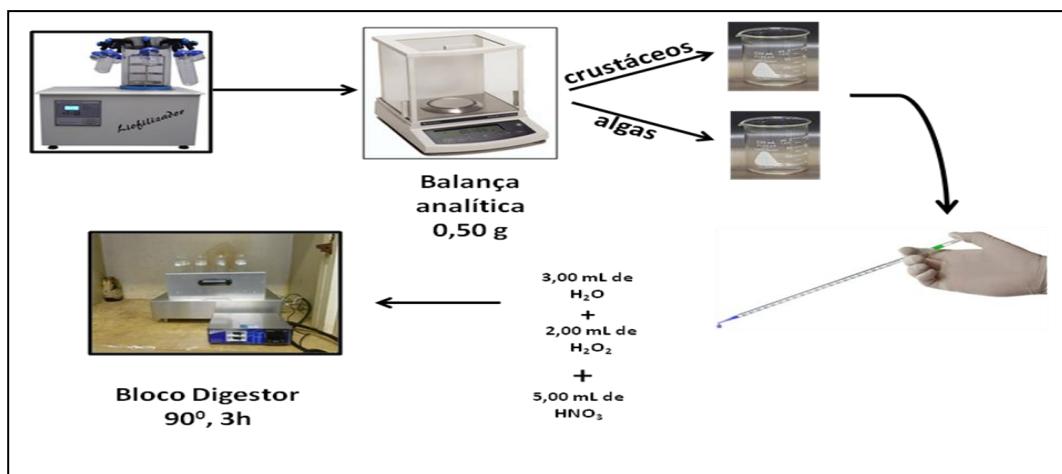


Figura 8: Fluxograma desde o tratamento até a abertura das amostras de algas e crustáceos.

Posterior ao processo de abertura, as amostras foram devidamente filtradas e transferidas para balões volumétricos de 50,00 mL e por fim estes foram avolumados com água ultra pura. É apresentado na Figura 9 abaixo um fluxograma com o resumo passo a passo de todo o processo até a análise.

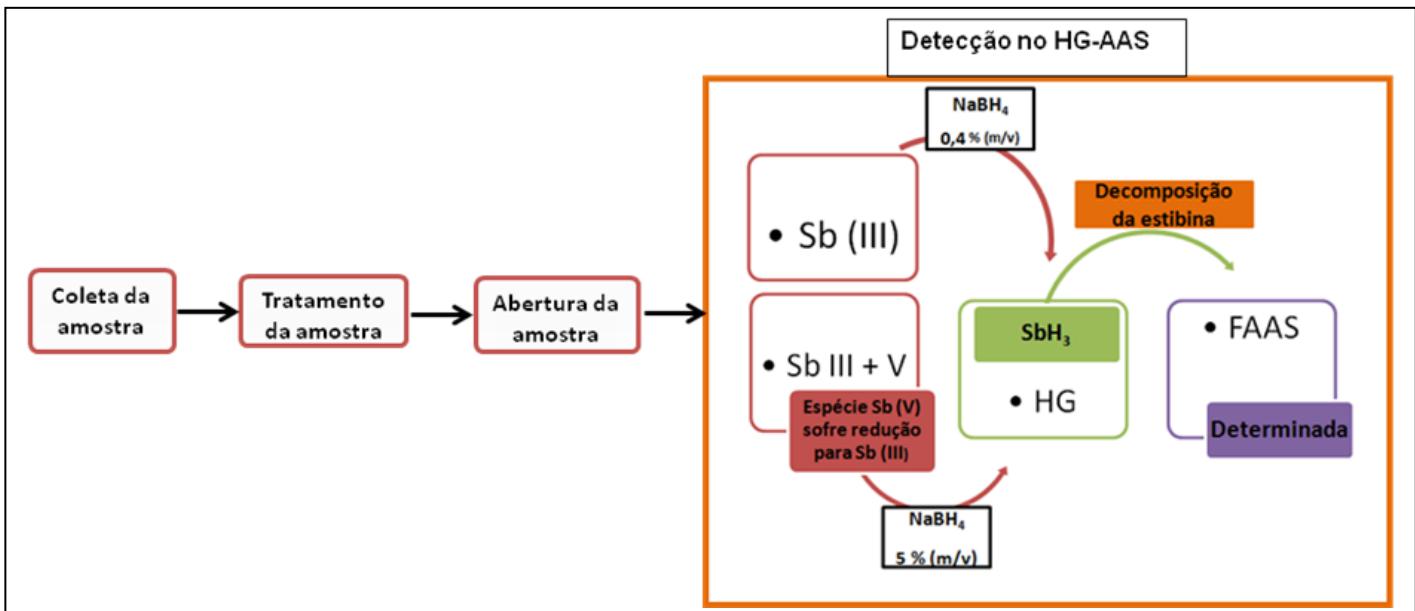


Figura 9: Fluxograma do sistema de análise desenvolvido para a determinação de Sb(III) e Sb total.

3.4.2.2 Sedimento

O procedimento para a abertura das amostras de sedimento foi baseado no método de extração sequencial BCR (4^a etapa de extração), proposto pela “European Communities Bureau of Reference” (URE *et al.*, 1993).

Em uma balança analítica pesou-se 1,0 g de sedimento e em seguida adicionou-se 10,00 mL de água régia (HCl: HNO₃, 3:1) (v/v). A digestão foi feita em bloco digestor à temperatura de 40 °C durante 12 horas e, em seguida, aquecida por 2 horas a 90 °C. É apresentado na Figura 10 um fluxograma com o resumo passo a passo do processo de abertura da amostra.

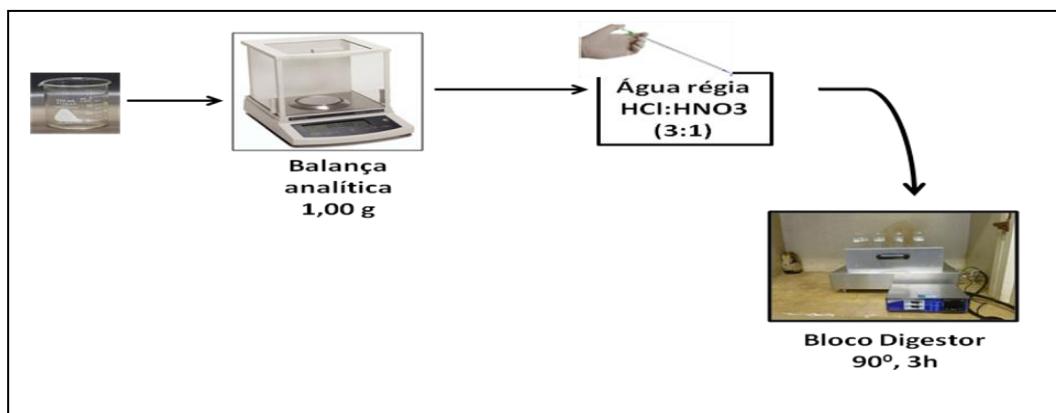


Figura 10: Fluxograma para o procedimento de abertura de amostra de sedimento.

3.4.2.3 Água do mar

As amostras de água do mar foram filtradas com papel de filtro quantitativo faixa branca 12,5 cm (J Prolab), a fim de minimizar as partículas em suspensão presentes nas amostras.

3.4.2.4 Água mineral

As amostras de água mineral foram adquiridas no comércio de Uberlândia – MG. Para as análises, as amostras foram enriquecidas com concentração de antimônio de $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ a $50,00 \mu\text{g L}^{-1}$ determinando-se suas recuperações.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Concentração da solução de NaBH₄ para determinação de Sb(III) e Sb total

A concentração do NaBH₄ é uma variável muito importante para a formação do hidreto volátil no processo de geração de hidretos. A eficiência do sinal no HG depende diretamente tanto da estabilidade da solução, e por isso se acrescenta o NaOH para minimizar a decomposição durante seu preparo de bancada, quanto da concentração ideal para o momento da análise (Vilarinho e Baccan, 2001).

Sabendo que o NaBH₄ é um agente redutor, e poderá de alguma forma reduzir Sb(V) para Sb(III) foram feitos estudos diretamente no HG sem redução prévia do Sb(V) para avaliar o comportamento do sinal analítico gerado. A Figura 11 apresenta a variação da absorbância em função da variação da concentração de NaBH₄.

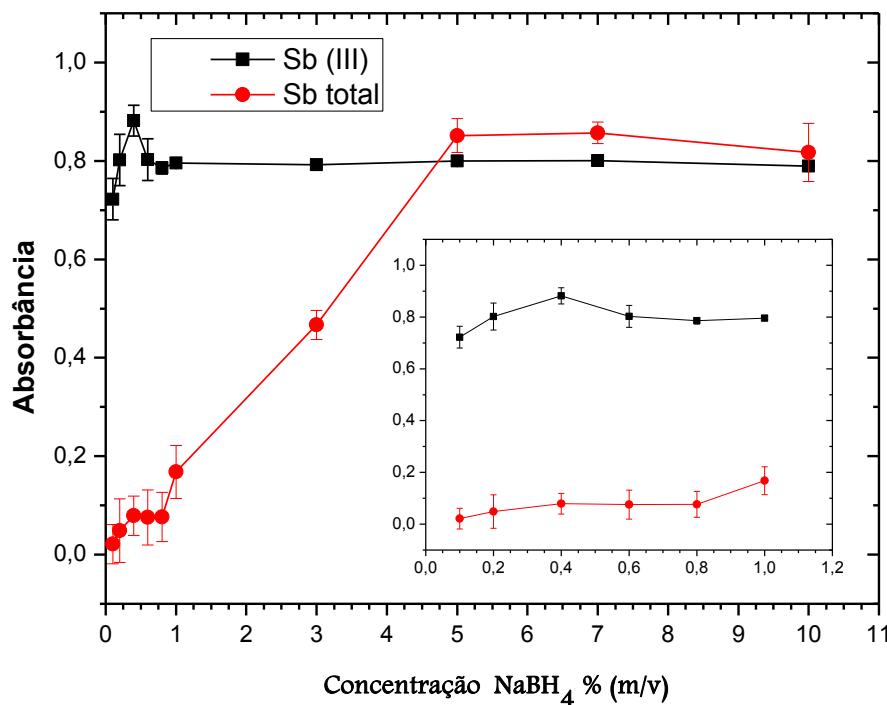


Figura 11: Estudo da influência da concentração de NaBH₄ na geração do hidreto de antimônio com as seguintes condições: Sb(III) e Sb(V) 10,0 µg L⁻¹, vazão do gás de arraste 100 mL min⁻¹, Concentração de HCl 5% (v/v), n=3 e determinação por HG AAS.

Em estudos e testes preliminares, foi observado, que as espécies pentavalentes de antimônio podem reagir com NaBH₄ com cinética de reação mais baixa que o Sb(III) (Ferreira *et al.*, 2014). Assim, o sinal produzido pelas espécies pentavalentes, depende da condição de geração de hidreto, podendo-se representar cerca de 50-80% do que é produzido pelas espécies trivalentes e podendo chegar até 90% conforme método desenvolvido.

Na Figura 11 observa-se que em concentrações baixas de NaBH₄ não se observa sinal analítico significativo para o Sb(V) podendo concluir que a concentração do redutor não é eficiente para reduzi-lo e consequentemente é obtido sinal analítico apenas para o Sb(III) para a mesma concentração de ambas as espécies. É possível verificar que para o Sb(III) o melhor sinal foi em concentração de NaBH₄ igual a 0,4% (m/v), sendo que após essa concentração o sinal permanece praticamente constante. Para Sb(V) observa-se que a medida que a concentração de NaBH₄ aumenta, o sinal analítico obtido também aumenta, alcançando seu máximo quando a concentração de NaBH₄ é igual a 5% (m/v), sendo nesse ponto o sinal obtido para Sb(V) praticamente igual àqueles obtidos para Sb(III). Desta forma, a concentração de NaBH₄ 0,4% (m/v) foi escolhida para determinação de Sb(III) e a concentração de 5,0 % (m/v) para determinação de Sb total, uma vez que essa concentração é suficiente para reduzir Sb(V) para Sb(III).

4.2 Otimização das variáveis do sistema de HG F AAS

A fim de obter condições ótimas, ou seja, melhor sensibilidade para determinação das espécies de antimônio, foram estudadas as variáveis do sistema de HG como, concentração do HCl, concentração do NaBH₄, vazão da amostra, redutor e ácido. Esse estudo foi realizado de forma univariada utilizando uma solução de Sb (III) 10 µg L⁻¹.

4.2.1 Vazão do gás de arraste

O gás de arraste utilizado nesse sistema foi o nitrogênio (N₂), que tem a função de levar o hidreto de antimônio gerado até a cela de quartzo onde ocorre

a atomização. A vazão do gás de arraste foi mantida no valor estabelecido pelo fabricante em $100,00 \text{ mL min}^{-1}$.

4.2.2 Vazão do NaBH_4

A vazão da solução de NaBH_4 deve ser otimizada para a obtenção de condições que favoreçam a formação de hidrogênio atômico, espécie fundamental na geração do hidreto como observado na equação 7 (Li *et al.*, 2009). Desta forma, a vazão da solução de NaBH_4 foi avaliada na faixa de 1,00 a $12,00 \text{ mL min}^{-1}$, como pode ser observado na Figura 12.

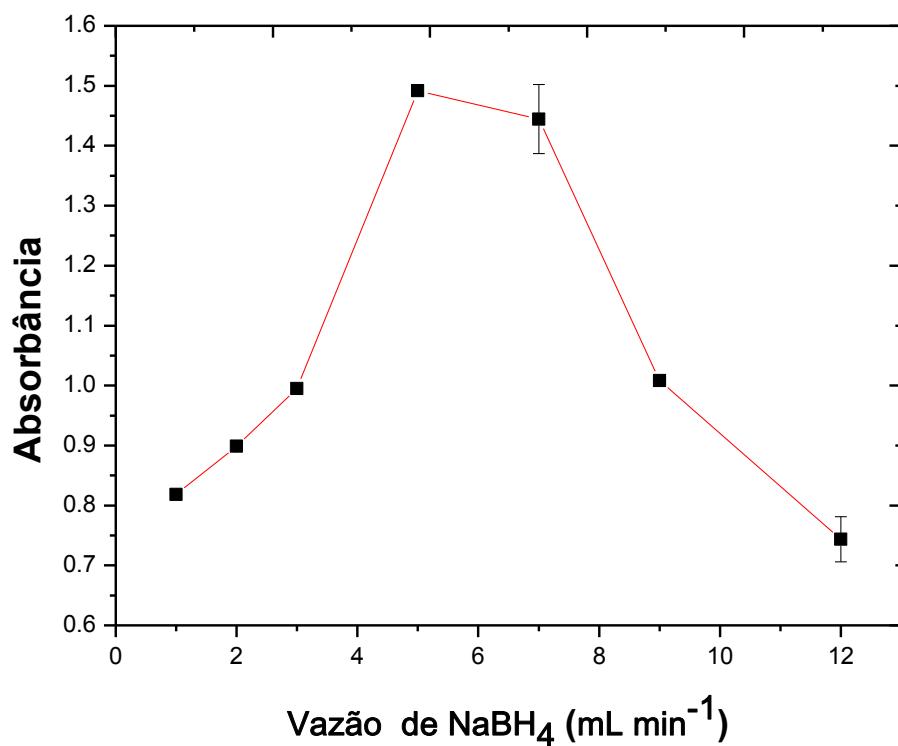
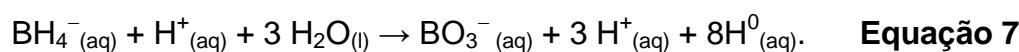


Figura 12: Estudo da influência da vazão de NaBH_4 na geração do hidreto de antimônio com as seguintes condições: Sb(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, vazão do gás de arraste 100 mL min^{-1} , Concentração de HCl 5% (v/v), vazão de HCl $7,0 \text{ mL min}^{-1}$, concentração do NaBH_4 0,4% (m/v) e determinação por HG AAS.

É possível notar que o sinal analítico é baixo quando a vazão do borohidreto de sódio se apresenta com valores inferiores a 5,00 mL min⁻¹ e decresce abruptamente para valores maiores que 7,0 mL min⁻¹. É possível observar também que em vazões entre 5,0 a 7,0 mL min⁻¹, o sinal analítico permanece constante. Em concentrações acima de 7,0 mL min⁻¹ ocorre uma diminuição do sinal analítico, o que pode ser justificado com a formação de gás H₂ em excesso (Passos *et al*, 2012; Vilarinho e Baccan 2001), ocorrendo consequentemente uma diluição da estibina e dificultando a chegada dos hidretos à cela de atomização. Para essa variável foi fixado um valor de 5,0 mL min⁻¹ nos estudos posteriores, com o intuito de não gerar muito resíduo no laboratório, sendo esse reagente tóxico.

4.2.3 Concentração do Ácido Clorídrico (HCl)

Com objetivo de conhecer a concentração de HCl mais adequada para formação de hidrogênio atômico ao reagir com NaBH₄, foi realizado um estudo da concentração de HCl utilizada para a geração de hidreto no separador gás-líquido. Soluções de HCl com concentrações variando entre 0,05 e 10% (v/v) foram testadas. A Figura 13 apresenta os resultados observados.

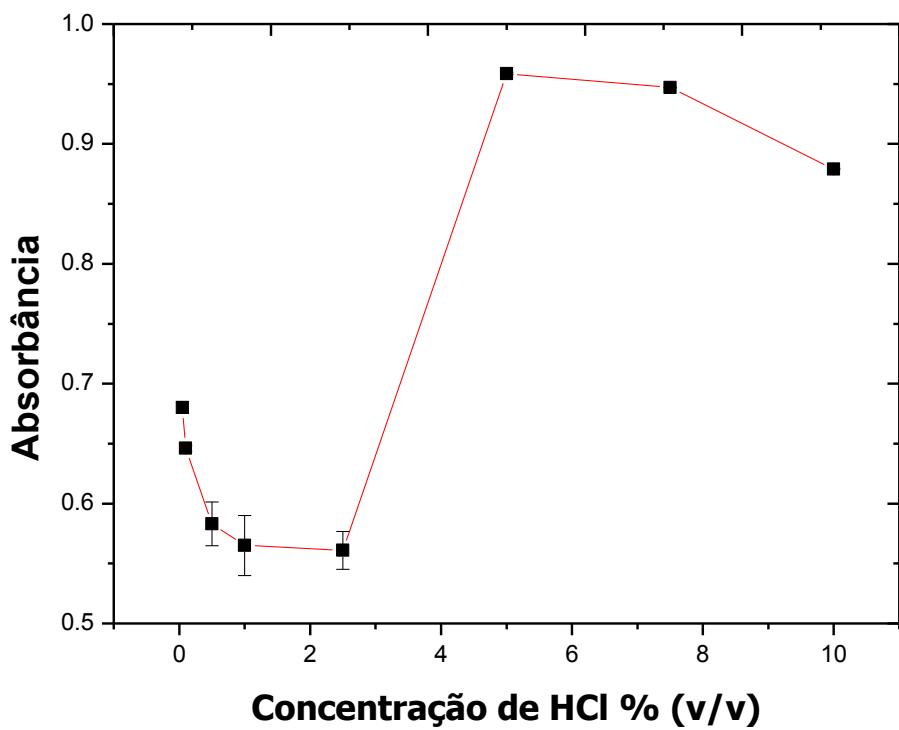


Figura 13: Estudo da influência da concentração de HCl na geração do hidreto de antimônio as seguintes condições: Sb(III) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH₄ 0,4% (m/v), vazão do NaBH₄ 6,0 mL min⁻¹, vazão de HCl 7,0 mL min⁻¹, vazão do gás de arraste 100 mL min⁻¹ e determinação por HG AAS.

Percebe-se que a intensidade do sinal analítico aumentou com o aumento na concentração de HCl até o valor de 5,0 % (v/v) e, então, começa decrescer. Quantidades excessivas de HCl e NaBH₄ aumentam a formação de H_{2(g)} no separador gás-líquido (Lu *et al.*, 2004). Este processo acarreta perdas na determinação do antimônio, uma vez que esse excesso dilui a estibina e consequentemente diminui o sinal analítico. Desta forma, o valor de 5,0% (v/v) foi utilizado para concentração de soluções HCl na formação do hidreto nos estudos posteriores.

4.2.4 Vazão do ácido clorídrico na formação do hidreto

A escolha de volumes adequados para a formação do hidreto de antimônio é muito importante, uma vez que vazões muito baixas poderão acarretar diminuição na formação de H atômico e por fim não formar quantitativamente os hidretos de antimônio, produzindo com isso sinais analíticos menores. Por isso é de grande importância que se estude a vazão do ácido clorídrico, uma vez que ele afeta diretamente o sistema de geração de hidretos. É apresentado na Figura 14 o estudo da vazão do HCl.

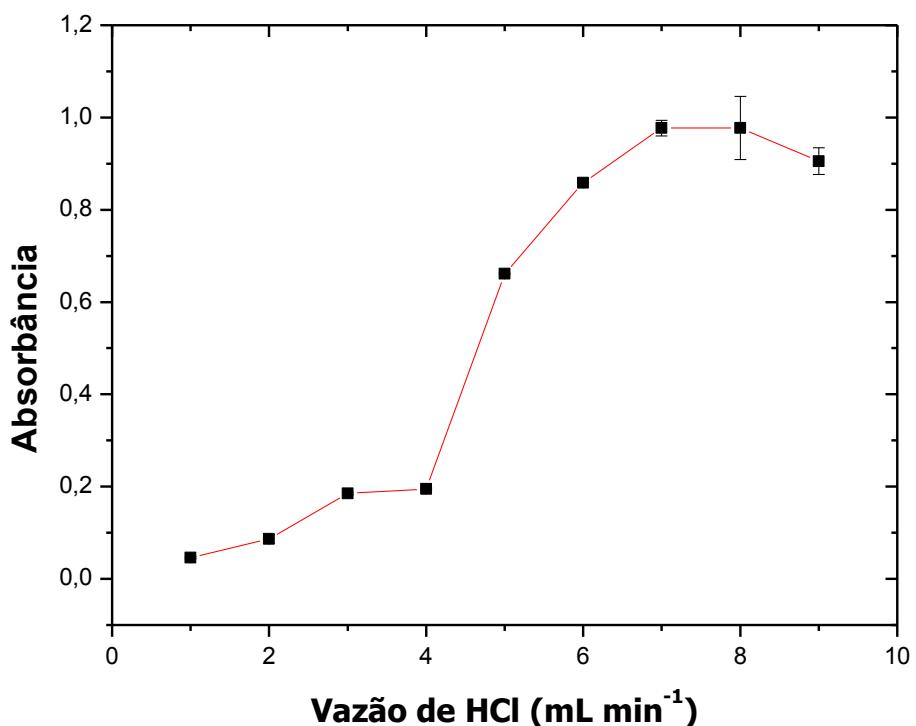


Figura 14: Estudo da influência da vazão do ácido clorídrico na formação do hidreto de antimônio. Condições: Sb(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, NaBH_4 0,4% (m/v), vazão do NaBH_4 $6,0 \text{ mL min}^{-1}$, concentração de HCl 5% (v/v), vazão do gás de arraste 100 mL min^{-1} e determinação por HG AAS.

Com base na Figura 14 é possível notar que o sinal analítico aumenta à medida que a vazão também aumenta, porém ao ultrapassar $8,0 \text{ mL min}^{-1}$ observa-se que o sinal diminui. Valores menores da vazão não fornecem HCl

suficiente para gerar hidrogênio atômico em quantidades adequadas para reagir com BH_4^- de forma eficiente (Lu *et al.*, 2004). Entretanto, em vazões maiores, ocorre formação excessiva de H_2 , que, por sua vez, intensifica a chama, interferindo no sinal analítico (Lu *et al.*, 2004, Chen, *et al.*, 2007, Li *et al.*, 2009). Consequentemente essa excessiva formação do H_2 dilui a quantidade formada de estibina, observando, como mostra a Figura 13 uma diminuição no sinal analítico. Desta forma, o valor de $7,0 \text{ mL min}^{-1}$ foi utilizado para a vazão da solução de HCl na formação do hidreto, em todos os estudos posteriores.

4.2.5 Vazão da injeção da amostra

Embora altas vazões da amostra sejam desejadas para alcançar altos valores de frequência de amostragem, as vazões da amostra são limitadas pelas características cinéticas da reação no sistema HG e pela capacidade do sistema de bombeamento em manter o fluxo estável sob altas pressões (Menezes, 2008). Na maioria dos casos, os requisitos cinéticos são os maiores fatores limitantes. Desta forma, vazões excessivamente elevadas da amostra, inevitavelmente levarão à diminuição do sinal de absorbância devido ao menor tempo de contato entre a amostra – ácido – NaBH_4 . Foi feito um estudo da influência da vazão da amostra no intervalo de $1,0$ a $10,0 \text{ mL min}^{-1}$, conforme representação na Figura 15.

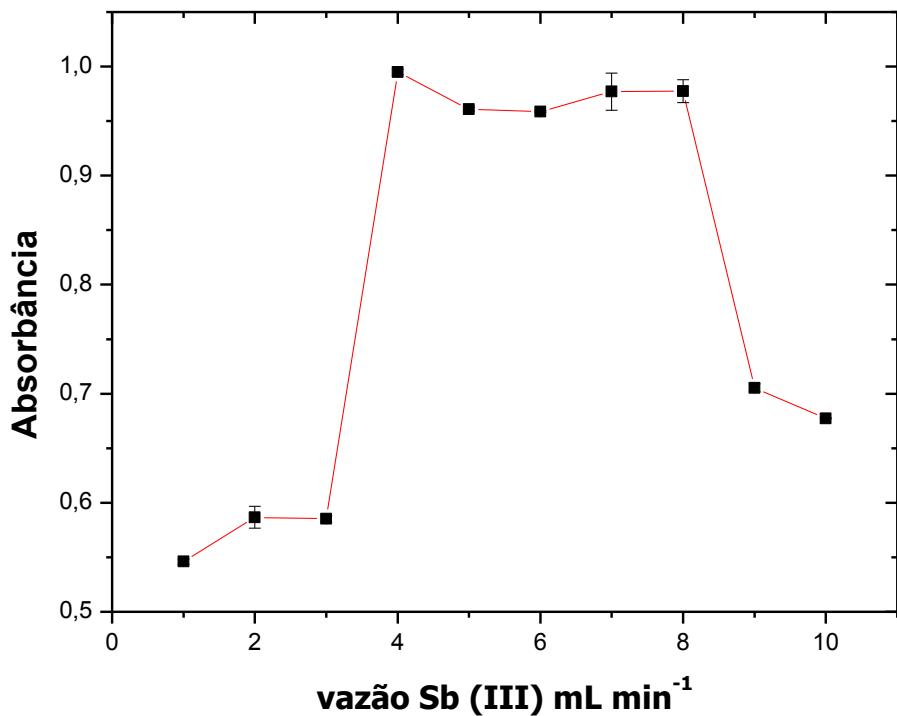


Figura 15: Estudo da vazão de Sb(III) na introdução do HG. Sb(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, NaBH_4 0,4% (m/v), vazão do NaBH_4 $6,0 \text{ mL min}^{-1}$, concentração de HCl 5% (v/v), vazão do HCl $7,0 \text{ mL min}^{-1}$ vazão do gás de arraste 100 mL min^{-1} e determinação por HG AAS.

O sinal analítico aumenta até a vazão de $4,0 \text{ mL min}^{-1}$ e a partir de então, matem-se quase que constante, observando um desvio baixo nessa faixa, até $8,0 \text{ mL min}^{-1}$ e em seguida decresce. Conforme mostra a Figura 15, esse decréscimo é devido as altas vazões de introdução da solução de Sb(III) que implica numa grande quantidade de amostra no separador gás-líquido e com isso a concentração de NaBH_4 não é suficiente para reduzir toda a amostra em estibina, consequentemente menores valores de absorbâncias são observados. Portanto, as determinações de Sb(III) foram fixadas com a vazão da amostra em $4,0 \text{ mL min}^{-1}$ para as otimizações posteriores. Optou-se por não aumentar a frequência analítica para não gerar mais resíduos no laboratório porque o Sb é tóxico nesse estado de oxidação.

4.2.6 Estudo da redução de Sb(V) para Sb(III)

A fim de avaliar se apenas a solução de NaBH_4 é suficiente para redução da espécie pentavalente, foi avaliado o melhor agente redutor. Foram analisados os redutores conforme disponibilidade no laboratório. Os redutores estudados para reduzir Sb(V) em Sb(III) foram Tiouréia, L- cisteína e Iodeto de potássio. Às soluções foram adicionadas Sb(V), sendo esse procedimento da pré-redução feito em batelada. A Figura 16 apresenta os resultados observados.

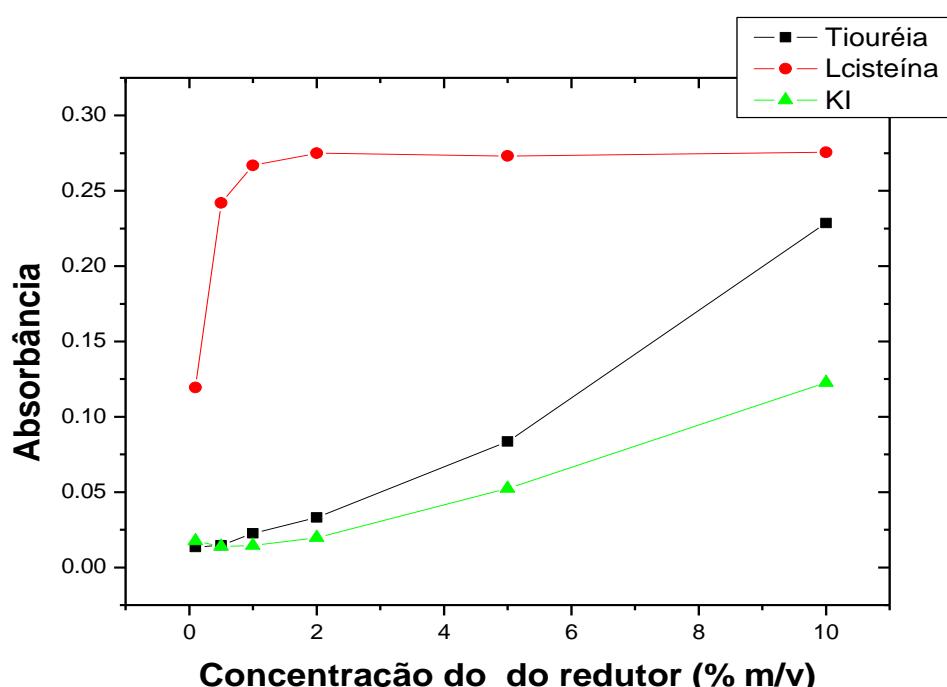


Figura 16: Estudo da eficiência do redutor na redução de Sb(V) para Sb(III). Condições: Sb(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, NaBH_4 0,4% (m/v), vazão do NaBH_4 $6,0 \text{ mL min}^{-1}$, concentração de HCl 5% (v/v), vazão do HCl $7,0 \text{ mL min}^{-1}$, vazão da amostra $4,0 \text{ mL min}^{-1}$, vazão do gás de arraste 100 mL min^{-1} e determinação por HG AAS.

Nesse primeiro momento, observando a Figura 16, foram avaliados os redutores L-cisteína, Iodeto de potássio e Tiouréia com a solução de Sb(V), sendo estes com potenciais de redução de 0,078V, 0,127V e 0,231V respectivamente. É possível notar que a L-cisteína foi o redutor de maior eficiência, obtendo os maiores sinais analíticos. Na literatura os trabalhos de

Feng e colaboradores (1999), Matusiewicz e Krawczyk (2008), Feng e colaboradores (1998) e Sun e colaboradores (2004) encontraram a L-cisteína como melhor redutor para reduzir Sb(V) para Sb(III) com detecção no AAS. Uma revisão feita por Miravet, López-Sánchez e Rubio (2004), apontam que em alguns estudos, os diferentes potenciais de redução e as taxas de hidreto na formação de Sb(III) e Sb(V) têm sido utilizados para análise de especiação de antimônio. No entanto, a pré-redução de Sb(V) a Sb(III) na geração do hidreto é obrigatória quando se quer determinar o total de Sb. O iodeto de potássio (Narahara, 1981; Welz e Sucmanova 1993), por si só ou misturado com ácido ascórbico , pode ser utilizado para este fim. No entanto, uma desvantagem do KI é a concentração de ácido extremamente elevada, para que a pré-redução seja rapidamente completada. Além disso, os valores dos brancos podem aumentar afetando o limite de detecção. Assim, Miravet e colaboradores (2004), relataram em sua revisão que a L-cisteína foi proposta para pré-reduzir o Sb(V) a Sb(III) por diversos autores (D'Ulivo *et al.*, 1998; D'Ulivo *et al.*, 2004; Welz e Sucmanova 1993, Chen, *et al.*, 1992) a L -cisteína é particularmente atrativa para esta finalidade, devido à sua baixa toxicidade e necessidade de baixas concentrações de ácido necessárias na geração de hidretos. Porém, uma possível reação entre o grupo tiol da L -cisteína e o tetrahidroborato que podem levar à formação de um complexo entre as duas espécies. Este intermediário pode alterar a reação, influenciando na geração de hidretos, ocorrendo uma pequena interferência nos sinais das absorbâncias (Miravet *et al.*, 2004).

O NaBH₄ pode ser utilizado diretamente no HG para formar o hidreto de Sb(III) e concentrações elevadas desse redutor são capazes de reduzir as amostras de Sb total em Sb(III) formando a estibina e consequentemente analisados diretamente no HG, eliminando a etapa de pré-redução o que minimiza os erros inerentes ao analista e uma possível contaminação da amostra durante essa etapa. Desta forma, para avaliar a eficiência do NaBH₄ como agente redutor para as amostras de Sb total, foi feito um segundo estudo, onde uma curva de calibração foi construída comparando os sinais analíticos obtidos utilizando a L-cisteína (melhor redutor; ver Figura 16) com os sinais analíticos obtidos utilizando NaBH₄, na concentração fixa de 5% (m/v). Na literatura, é observado que a L-cisteína é bastante utilizado para reduzir a

espécie de Sb(V) em Sb(III) (Matusiewicz e Krawczyk, 2008; Gonzalvez *et al.*, 2009; Ferreira *et al.*, 2014)

A Figura 17 mostra que concentrações fixas de NaBH₄ 5% (m/v) são suficientes para reduzir a amostra de Sb total a SbH₃ tal como a L-cisteína, uma vez que os sinais de absorbâncias são bastante próximos. Conclui-se então, que é possível eliminar a etapa de pré-redução para esse método.

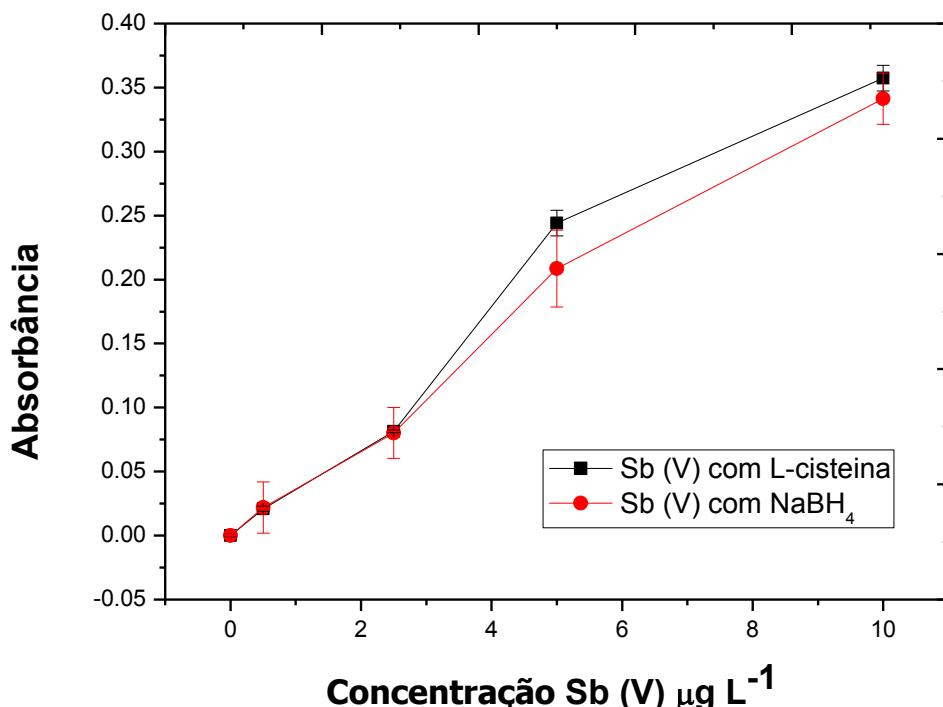


Figura 17: Estudo da eficiência do redutor NaBH₄ na redução direta no HG de Sb(V) para Sb(III). Condições: Sb(V) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH₄ 5% (m/v), concentração do ácido clorídrico 5% (v/v), vazão do HCl 7,0 mL min⁻¹, vazão da solução de Sb 4,0 mL min⁻¹ vazão do gás de arraste 100 mL min⁻¹ e determinação por HG AAS.

Sendo assim, observa-se ainda na Figura 17 que os sinais analíticos entre o NaBH₄ e a L-cisteína apresentam o mesmo comportamento e por isso o NaBH₄ foi utilizado na pré-redução do Sb(V) para Sb(III), eliminando uma etapa de preparo da amostra, sendo essas espécies convertidas de modo *on line* no próprio gerador de hidretos, uma vez que o NaBH₄ é utilizado também para formar a estibina.

No estudo posterior foi avaliada a redução do Sb(V) para Sb(III) diretamente no HG variando apenas a concentração do redutor NaBH₄ e comparando com uma outra curva de Sb(III) utilizando o redutor em concentrações de 0,4% (m/v). Para esse estudo foram construídas duas curvas, sendo uma com Sb (III) em condições de concentração do NaBH₄ a 0,4% (m/v) e outra com Sb(V) usando a concentração do NaBH₄ em 5% (m/v). Os sinais analíticos foram obtidos conforme Figura 18.

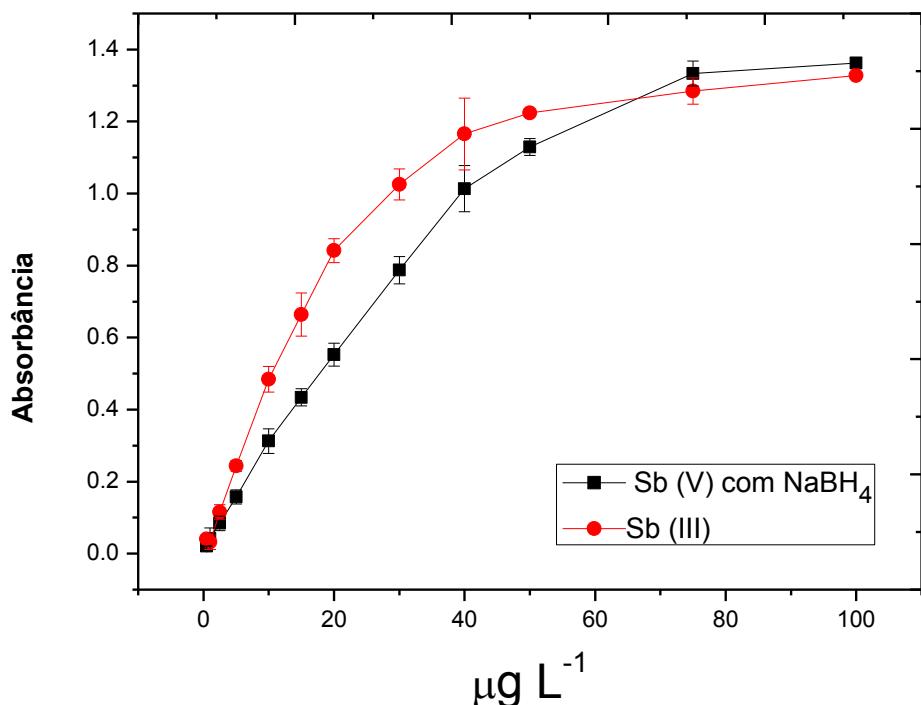


Figura 18: Estudo da comparação da redução do Sb(V) utilizando NaBH₄ diretamente no HG com as absorbâncias de Sb(III). Condições: Sb(III) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH₄ 0,4% (m/v), concentração do HCl 5% (v/v), vazão do HCl 7,0 mL min⁻¹. Condições Sb(V): Sb(III) 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, NaBH₄ 5,0% (m/v), concentração do HCl 5% (v/v), vazão do HCl 7,0 mL min⁻¹.

Os sinais de absorbância de Sb(III) e Sb(V) variando a concentração de NaBH₄ são muito parecidos, mostrando assim que as análises feitas diretamente no HG são eficientes para determinar Sb total sem a necessidade de uma pré-redução.

4.3 Resumo das condições após otimização

De posse dos resultados discutidos na otimização do desenvolvimento do método, são apresentados na Tabela 12 os resultados obtidos para determinar Sb(III) e Sb total.

Tabela 12: Condições otimizadas do método desenvolvido para a determinação de Sb (III) e Sb total.

Parâmetros	Resultados
Concentração de NaBH ₄ para Sb(III)	0,4% (m/v)
Concentração de NaBH ₄ para Sb total	5,0% (m/v)
Vazão da solução de NaBH ₄	5,0 mL min ⁻¹
Concentração de HCl	5,0% (v/v)
Vazão da solução de HCl na formação do hidreto	7,0 mL min ⁻¹
Vazão da solução de N ₂	100,0 mL min ⁻¹
Vazão da solução de Sb (III)	4,0 mL min ⁻¹

Com base nos resultados observados é proposto então um procedimento analítico. A determinação de Sb(III) e Sb total não acontece simultaneamente, sendo Sb(III) determinado em um momento e Sb total, não importando a ordem de análise das amostras.

Para Sb(III) é usado uma vazão de injeção da amostra no HG de 4,0 mL min⁻¹ sendo esta amostra propulsionada pela bomba peristáltica do HG. O NaBH₄ também é introduzido no HG através da bomba peristáltica a uma vazão de 5,0 mL min⁻¹ e encontra em um momento com HCl que é introduzido por sua vez no HG com vazão de 7,0 mL min⁻¹. Em seguida, o NaBH₄ estando em meio ácido encontra com a amostra em uma linha de reação para gerar a estibina (SbH₃) que em seguida é carreada, com a ajuda do gás N₂ numa vazão de 100,0

mL min^{-1} , até a cela de quartzo. A cela de quartzo encontra-se sobre uma chama de ar-acetileno que é nesse momento onde ocorre a detecção.

Para Sb total a análise ocorre na mesma sequência que o Sb(III), mudando apenas a concentração do NaBH_4 de 0,4% (m/v) para 5,0% (m/v).

4.4 Teste de Seletividade

Durante o desenvolvimento de um novo método analítico é importante que seja avaliado o comportamento de possíveis interferentes no sistema. Este procedimento é comumente realizado com o intuito de se obter informações acerca da aplicabilidade do método para diferentes tipos de amostras. Uma vez otimizadas as condições operacionais para a determinação de Sb nos estados de oxidação (III) e (V), passou-se para a etapa seguinte que consistiu no estudo do efeito de alguns íons que poderiam interferir no momento da análise.

As amostras de algas, crustáceos, água de mar e sedimentos, aplicadas no método possuem tanto constituintes orgânicos, como constituintes inorgânicos. Sabendo que a água de mar é composta por diversos elementos em quantidades distintas, foram analisados alguns íons presentes na água de mar para verificar se no momento da análise ocorrerá interferência desses íons quando a amostra real fosse analisada. De posse dessas informações foi realizado um estudo da determinação de Sb(III) na presença de possíveis interferentes. Para tanto, soluções contendo íons Sb(III) e espécies interferentes foram preparadas, como mostra a Tabela 13.

Tabela 13: Valores de concentração da solução mista para estudo de interferentes na determinação de Sb(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Sol./íons	Sb(V)	As(III)	As(V)	Ca	Na	Cl ⁻	PO ₄ ³⁻	Fator de interferência (FI)
	($\mu\text{g L}^{-1}$)							
1	0	0	0	0	0	0	0	1,00
2	500	0	0	0	500	0	500	1,18
3	0	500	0	0	500	500	0	1,01
4	500	500	0	0	0	500	500	1,30
5	0	0	500	0	500	500	500	1,05
6	500	0	500	0	0	500	0	1,06
7	0	500	500	0	0	0	500	1,05
8	500	500	500	0	500	0	0	1,20
9	0	0	0	500	0	500	500	1,31
10	500	0	0	500	500	500	0	1,26
11	0	500	0	500	500	0	500	1,06
12	500	500	0	500	0	0	0	1,35
13	0	0	500	500	500	0	0	0,56
14	500	0	500	500	0	0	500	1,08
15	0	500	500	500	0	500	0	1,39
16	500	500	500	500	500	500	500	1,49
17	250	250	250	250	250	250	250	1,00

Os íons contidos nas soluções 4, 8, 9, 10, 12, 13, 15 e 16, conforme apresentado na Tabela 13 conferiram interferência significativa na determinação de Sb(III). Isso pode ter ocorrido, uma vez que as concentrações adicionadas na

solução estão em concentrações muito mais elevadas ($500 \mu\text{g L}^{-1}$), quando comparadas a concentração da solução de Sb (III) presente nas soluções numa concentração de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Esses íons estão contidas em concentrações menores nas amostras reais analisadas, isso é possível observar no teste de recuperação que não ocorreu interferência significativa, obtendo-se um valor aceitável para a recuperação e Sb(III) nas amostras.

Observa-se, que os ensaios feitos com os íons conforme Tabela 13 para o estudo de interferentes ocorreu interferência em quase todas as soluções analisadas. Porém, sabendo que as espécies estudadas, Sb(V), As(III), As(V), Ca^{+2} , Na^+ , Cl^- , PO_4^{3-} , estão presentes na água do mar em concentrações de $0,33 \mu\text{g L}^{-1}$ para Sb total; $2,6 \mu\text{g L}^{-1}$ para As total; $4,11 \times 10^5 \mu\text{g L}^{-1}$ para Ca^{+2} ; $1,08 \times 10^7 \mu\text{g L}^{-1}$ para Na^+ ; $1,94 \times 10^7 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cl^- e por fim de 0 a $88,00 \mu\text{g L}^{-1}$ para PO_4^{3-} (Skinner e Karls, 1988) e observando o experimento 17 onde todos os íons encontram-se em concentrações de $250 \mu\text{g L}^{-1}$, mesmo que superiores aos valores de concentrações nas amostras ambientais, o fator de interferência foi de 1,0. Então, não há interferências para o método proposto na determinação de Sb(III) e Sb total uma vez que os íons estudados estão em concentrações menores que $250 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.5 Linearidade, Sensibilidade e Precisão

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação. (Ribani *et al.*, 2004).

Na maior parte dos casos, a relação matemática entre o sinal e a concentração ou massa da espécie de interesse deve ser determinada empiricamente, com base em sinais medidos para massas ou concentrações conhecidas dessa espécie. (Menezes, 2008). Essa relação matemática, muitas vezes, pode ser expressa como uma equação de reta chamada de curva analítica ou curva de calibração. Para o método desenvolvido foram construídas 2 curvas analíticas como seguem Figura 19.

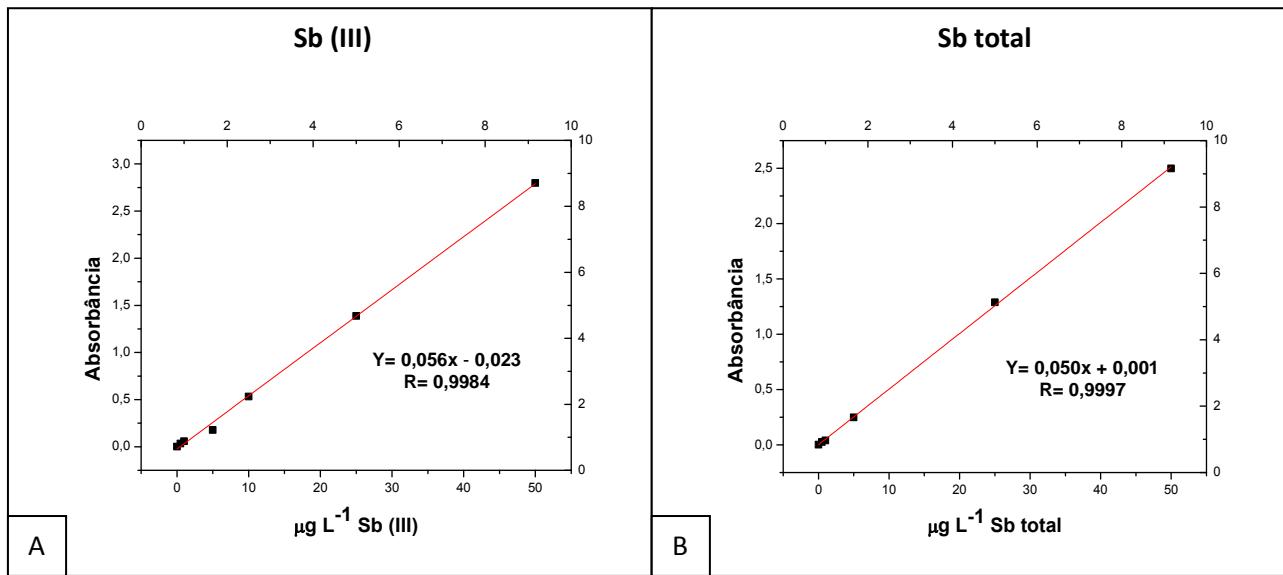


Figura 19: Curva analítica para o método proposto, sendo A: curva analítica para determinação de Sb(III) com injeção direta no HG; B: Curva analítica para determinação de Sb total.

A faixa linear do método proposto foi avaliada no intervalo de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Sb(III) e Sb(V) com redutor NaBH₄ a 5%(m/v). Na tabela 9 são apresentadas as faixas lineares para as curvas mencionadas acima do método proposto.

Os parâmetros L.D. e L.Q. foram estimados através das medidas de branco ($n = 10$), conforme descrito na literatura (Analytical Methods Committee, 1987). Esses valores estão dispostos na Tabela 14.

A precisão foi avaliada em termos da repetibilidade após 10 sucessivas análises de soluções de Sb(III) e Sb(V) numa concentração de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$. A precisão do método também foi avaliada como está representado na Tabela 14.

Tabela 14: Parâmetros de linearidades para as curvas analíticas da Figura 19 representadas acima como A e B.

	LD µg L ⁻¹	LQ µg L ⁻¹	Faixa linear µg L ⁻¹	RSD (%)	Linearidade R
Sb(III)	0,22	0,73	0,73-50	0,08	0,9984
Sb total	0,25	0,82	0,82-50	0,38	0,9997

A precisão representa a dispersão de resultados independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. Dessa forma, é um parâmetro que mede o grau de incerteza de um método analítico devido à dispersão das respostas instrumentais e da execução dos procedimentos (Ribani *et al.*, 2004).

4.6. Frequência de amostragem

A frequência de amostragem estabelece a quantidade de amostras que podem ser analisadas por hora. Para esse trabalho foi avaliado em quanto tempo uma análise é feita e posteriormente com regra de três, foi feita a comparação para 30 minutos. Altas frequências representam uma vantagem, quando o método se destina a análise de um número muito grande de amostras em um período curto de tempo. Para essa metodologia proposta foi possível se avaliar a frequência analítica, sendo possível realizar aproximadamente 30 análises em uma hora.

4.7. Teste de Exatidão

Os testes para aplicação do método desenvolvido para determinar a concentração de Sb(III) e Sb total em um sistema foram realizadas em amostras de água mineral comercializadas na cidade de Uberlândia. Nestas amostras a concentração do analito estava abaixo ao limite de detecção do método, pois o elemento de interesse não foi detectável pelo método proposto. Foram utilizados

os parâmetros otimizados do método desenvolvido, e a faixa da curva de calibração empregada foi de 0,5 - 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os resultados de recuperação são mostrados na Tabela 15.

Tabela 15: Teste de recuperação de Sb(III) e Sb total em amostras de água minera (n=3).

Amostras			
		Água mineral	Água mineral
		Tipo 1	Tipo 2
Sb (III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Adicionada	10,00	10,00
	Encontrada	$9,88 \pm 0,10$	$9,98 \pm 0,40$
	Recuperação (%)	99,88	99,98
Sb total (III + V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Adicionada	10,0	10,0
	Encontrada	$9,99 \pm 0,21$	$10,37 \pm 0,30$
	Recuperação (%)	90,99	103,37

n: número de replicatas

Os resultados apresentados acima evidenciam que a metodologia não apresentou problemas relacionados ao efeito de matriz, visto que a recuperação dos íons Sb(III) e Sb(V), no método proposto, apresentou valores dentro da faixa aceitável de 80 a 120% (Association of Official Analytical Chemists).

A exatidão do método foi avaliada ainda por meio da análise dos materiais certificados APS – 1075 e APS-1066, sendo uma de água mineral e a outra de sedimento, respectivamente. A Tabela 16 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 16: Aplicação das amostras certificadas no método desenvolvido para determinação de Sb(III) e Sb total.

Amostra	Método Proposto		Valor Certificado
	Sb(III)	Sb total (III + V)	
APS-1075	N.D	9,7 ± 0,1	10,0 ± 0,5
APS-1066	N.D	0,48 ± 0,10	0,5 ± 0,1

Valores: $\mu\text{g L}^{-1}$; N.D: não detectado

Os resultados observados para a análise das amostras certificadas APS-1075 e APS-1066, evidenciam que os valores obtidos são consistentes com o valor de referência, confirmando a confiabilidade do método desenvolvido. Observa-se também na Tabela 16 que nas amostras certificadas foram encontrados valores para Sb total, não sendo detectado valores para Sb(III).

Com base em todos os estudos feitos para o desenvolvimento do método para determinar Sb(III) e Sb total diretamente no HG, este mostrou-se eficiente para se determinar espécies inorgânicas de Sb. Conforme Tabela 17, observa-se na literatura que é comum se utilizar uma etapa de pré-redução em batelada para determinar Sb total, enquanto o método desenvolvido determina de forma *on line*.

Tabela 17: Comparação de métodos para determinação de Sb(III)/Sb(V) utilizando geração de hidretos.

Amostra	Espécie	Pré-tratamento da amostra	Metodologia	Detecção	L. D	Referência
Água	Sb(III)/ Sb(V)	Redução com Cisteína	Redução sequencial	HG ICP AES	1,2 - 4,5 ng mL ⁻¹	Feng, <i>et al.</i> , (1999)
Leite	Sb(III)/ Sb(V)	Redução com KI	Redução sequencial	HG AFS	5,4-7,7 ng L ⁻¹	Montesinos <i>et al.</i> , (2003)
Água e sedimentos	Sb(III)/ Sb(V)	Complexação com 8-hidroxiquinolin o.	Retenção com agente mascarante em alumina	GF AAS	----	Smichowski <i>et al.</i> , (1994)
Água residual	Sb(III)/ Sb(V)	Redução com HCl e ácido tartárico	Redução sequencial	HG ICP AES	0,19 ng mL ⁻¹	Nakahara <i>et al.</i> , (1985)
Amostras ambientais	Sb(III)/ Sb(V)	-----	Redução com NaBH ₄	HG F AAS	0,16-0,17 μg L ⁻¹	Este trabalho

Tendo em vista os trabalhos encontrados na literatura em relação ao desenvolvimento de metodologias para determinação de Sb(III) e Sb total utilizando amostragem direta no HG e considerando as vantagens do método que incluem diminuição de reagentes utilizados, diminuição de uma etapa de pré-redução das amostras, fácil operação, viabilidade em fazer muitas análises em intervalo curto de tempo, ficando evidente a possibilidade da utilização do método proposto para outros tipos de matrizes de interesse ambiental e alimentício (água, sucos, chás, etc) e íons metálicos (Se, As, Sb), além daqueles citados nesse trabalho.

4.8 Aplicação do método nas amostras de água do mar, algas, crustáceos e sedimento

Com o método desenvolvido para quantificação de Sb(III) e Sb total foram analisadas amostras de três praias da região de Ubatuba-SP a fim de avaliar se o local está contaminado, uma vez que é uma região onde a maioria das praias é de origem turística.

Na Tabela 18 abaixo estão dispostos os resultados das amostras analisadas no Laboratório de Espectroscopia Aplicada. Observa-se que as algas, crustáceos e sedimentos são biomarcadores para Sb(III) e Sb total.

Tabela 18: Resultados da determinação de Sb total em amostras de água do mar, algas, crustáceos e sedimentos coletadas na Praia de Itaguá Ubatuba-SP.

Água do mar ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Alga ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Crustáceo ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Sedimento ($\mu\text{g g}^{-1}$)
N.D.	$0,91 \pm 0,20$	N.D	N.D
N.D.	N.D	N.D	$2,75 \pm 0,50$
N.D.	N.D	N.D	$3,8 \pm 0,53$

N.D:

N.D.: não detectado, N=3

É observado na Tabela 18 que não foi detectado o Sb(III) em nenhuma das amostras determinadas e Sb total em amostras de algas e sedimentos, na praia de Itaguá. Isso pode ter ocorrido porque no setor central do município, está localizada a Baía de Ubatuba, na qual está inserida a Praia de Itaguá. Este setor constitui a área de maior ocupação e atividade antrópica do município, principalmente a região da praia de Itaguá, e abriga inúmeras estruturas artificiais de pequena dimensão, representadas principalmente por píers, rampas e muros ao longo da costa, geralmente em locais habitados. Além disso,

também uma estrutura com dois píers de atracação de barcos de turismo, com aproximadamente 800 metros de linha de costa (Rocha *et al.*, 2010).

Embora o município represente a região mais preservada e conservada de todo o litoral norte paulista (Rocha *et al.*, 2010), nos últimos anos, dados físicos e químicos vem revelando uma crescente expansão da indústria turística com consequente introdução de efluentes urbanos sem tratamento, assim como a expansão de resíduos industriais no município (Mantelatto; Fransozo, 1999). É encontrado também próximo a esses locais a exploração mineral, constituindo uma das maiores ameaças à estabilidade ambiental da região (Castro; Bruna, 2002). Com isso, as concentrações de antimônio encontradas poderão ser de fonte antropogênica presente em tintas de cascos dos barcos, resíduos industriais e outros. Na Figura 20, é observado que algas, crustáceos e sedimentos são biomarcadores para Sb, uma vez que foi possível encontrar quantidades de Sb presentes em suas amostras. É possível que não se observe o mesmo para amostras de água, uma vez que a água está sempre sendo renovada nas praias.

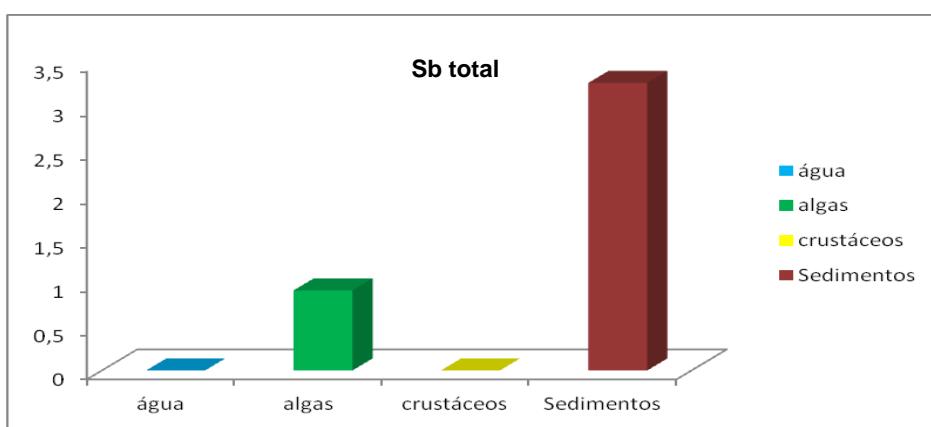


Figura 20. Representação das concentrações em ($\mu\text{g g}^{-1}$) de Sb total na praia de Itaguá-SP.

A Praia de Fortaleza possui uma baixa ocupação antrópica devido ao seu difícil acesso. Com base nisso, é possível explicar o fato de que na praia de Fortaleza não foi possível verificar nenhuma concentração de antimônio, uma vez que a concentração de Sb estava abaixo do limite de detecção do método. Os resultados obtidos também para a Praia de Lambert não foram detectados

pelo método proposto. Não foi observado nos biomarcadores (algas, crustáceos e sedimentos) presença de Sb nas amostras.

CAPÍTULO 5: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método desenvolvido para determinação de Sb (III) e Sb total com a utilização da variação da concentração do agente redutor NaBH₄ mostrou-se eficiente e simples. Foi possível observar também que o sistema permitiu uma economia de reagentes e rapidez nas análises das amostras e possibilitou a redução de resíduos gerados nos laboratório.

A eficiência e exatidão do método foram comprovadas pelas análises de amostras certificadas e recuperação para amostras de água mineral obtidos no comércio local.

Através do método desenvolvido para determinação de Sb foi possível analisar amostras de água do mar, algas, crustáceos e sedimentos de três praias (Fortaleza, Lamberto e Itaguá) da região de Ubatuba – SP a fim de avaliar se existe contaminação das praias de fontes antropogênicas, sabendo que nesse local existem indústrias de setores diferentes, incluindo mineradoras, píers e são locais povoados.

5.1 Perspectivas

Avaliar uma quantidade maior de amostras de um mesmo local, para se obter dados a respeito da bioacumulação do Sb (III) e do Sb total ao longo da cadeia trófica.

6. Referências

Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA <http://portal.anvisa.gov.br>. Acessado em 13/11/2013

Amado-filho, G. M. A.; Salgado, L. T. A.; Rebelo, M. F. B.; Rezende, C. E.; Karez, C. S.; Pfeiffer W. C. “*Heavy metals in benthic organisms from Todos os Santos Bay, Brazil*”. Brazilian Journal of Biology, v. 68, p. 95-100, 2008.

Andreae, M. O.; Asmodé, J. F.; Foster, P.; Dack, L. V. “*Determinations of antimony (III), antimony (V), and methylantimony species in natural waters by atomic absorption spectrometry with hydride generation*”. Analytical Chemistry., v. 53, p. 1766-1771, 1981.

Atkins, P. W; Jones, L. L. “*Principios de Química: Questionando a vida moderna e o meio ambiente*”. Porto alegre, Bookman Companhia, v. 1, p. 873, 2001.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Public Health Assessment Guidance Manual- ATSDR. Public Health Service. US Dept. of Health and Human Services, Atlanta, GA, 1992.

Azevedo, F. A.; Chasin, A. A. M. “*Metais: Gerenciamento da Toxicidade*”. São Paulo, Editora: Atheneu, p.554, 2003.

Baird, C. Química Ambiental. 2^a ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

Baroni, F., Boscagli, A.; Protano, G.; Riccobono F., “*Antimony accumulation in Achillea ageratum, Plantago anceolata and Silene vulgaris growing in an old Sb – mining area*”. Environ Pollut v.109, p. 347-352, 2000.

Barra, M. C.; Santelli, R. E.; Abrão, J. J.; Guardia, M. D. L. “*Especiação de arsênio - uma revisão*”. Química Nova, v. 1, p. 58-70. 2000.

Bencze, K. Seiler, H.G, Sigela, A., Sigel, H. “*Handbook on metals in clinical and analytical chemistry*”. New York, cap. 17, p. 227-236. 1994.

Bertoletti, E. “*Ensaios biológicos com organismos aquáticos e suas aplicações no controle da população*”. São Paulo: CETESB, 1990.

Brito, B. A., “*Bioacumulação de metais pesados em anfípodes herbívoros e em algas do litoral norte do Estado de São Paulo*”. Monografia. Universidade Federal de Uberlândia, 2013.

Campos, R. C.; Grinberg, P.; Takase, I.; Pereira, H. B.; Luna, A. S. “*A geração de Química de vapor em Espectrometria Atômica*”. Química Nova, v. 25, p. 1132-1144, 2002.

Castro, D. M. L.; Bruna, G. C. “*Políticas Públicas de Ocupação do Solo e Desenvolvimento Sustentável: O Caso do Município de Ubatuba*”. México. Anais do XXVIII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 1, p. 28-35, 2002.

Cava-Montesinos, P.; Cervera, M.L.; Pastor, A., De la Guardia, M.P. *Determination of arsenic and antimony in milk by hydride generation atomic fluorescence spectrometry*. Talanta, v. 60, p. 787–799, 2003.

Chen, M. L., Zou, A. M., Yu, Y. L. & He, R. H. “*Hyphenation of flow injection/sequential injection with chemical hydride/vapor generation atomic fluorescence spectrometry*”. Talanta, v. 73, p. 599-605, 2007.

Chen, H.; Brindlet, I. D.; Zheng, S. “*Combined Generator Beparator Part 2. Stibine Generation Combined With Flow Injection for the Determination of Antimony in Metal Samples by Atomic Emission Spectrometry*”. Analyst, v. 117, p. 1603-1611, 1992.

CONAMA - < <http://www.mma.gov.br/> > Acessado em 14/11/2013

Conrado, A. Brasil – Extrativismo Mineral. 2009. Disponível em: <<http://pt.shvoong.com/social-sciences/education/2015392-brasil-extrativismo-mineral/>> Acesso em 14 de dezembro 2013.

Chen C.S, Jiang, S-J., “*Determination of As, Sb, Bi and Hg in water samples by flow-injection inductively coupled plasma mass spectrometry with an in-situ nebulizer/hydride generator*”, Spectrochim Acta 51B, p.1813-1821, 1996.

Cutter, G. A., et al., “*Antimony and arsenic biogeochemistry in western Atlantic Ocean*”. Deep-sea Research part II- Topical Studies in Oceanography, v.48, p.2895-2915, 2001.

D’ulivo, A. “*Chemical vapor generation by tetrahydroborate (III) and other borane complexes in aqueous media. A critical discussion of fundamental processes and mechanisms involved in reagent decomposition and hydride formation*”. Spectrochimica Acta Part B, v. 59, p. 793-825, 2004.

D’Ulivo, A.; Lampugnani, L.; Faraci, D.; Tsalev, D.L.; Zamboni, R. “*Elimination of hydrofluoric acid interference in the determination of antimony by the hydride generation technique*”. Talanta, v. 45, p. 801–806, 1998.

Daby, D. “*Coastal pollution and potential biomonitor of metals in Mauritius. Water, Air, and Soil Pollution*”. Dordrecht, v.174, p.63-91, 2006.

Dedina, J.; Matousek, T. “*A new approach to hydride atomization for atomic absorption spectrometry*”. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. v.15, p. 301–304, 2000.

Dedina, J.; Tsalev, D.L. “*Hydride generation atomic absorption spectrometry*”. John Wiley & Sons, Nova Jersey, 1995.

Depoi, F. S; Pozebon, D. “*The use of cloud Extraction and Hydride Generation for Improving the Sb and Se Limits the detection in ICP OES*”. Journal of the Brazilian Chemical Society. v. 23, p. 2211-2222, 2012.

Ding, W. W., Sturgeon, R. E. “*Evaluation of electrochemical hydride generation for the determination of total antimony in natural waters by electrochemical*

atomic absorption spectrometry with in situ concentration". Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v. 11, p. 225-230, 1996.

Dubiaski, S. J. "O fital de *Sargassum cymosum* C. Agardh, 1820 (*Phaeophyta - Fucales*) e seu papel na dieta de peixes e braquiúros na ponta das Garoupas, Bombinhas". Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

Emons, H., Krachler, M., "Speciation analysis of antimony highperformance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry using ultrasonic nebulization". *Analytica Chimica Acta*, v. 429, p. 125-133, 2001a.

Emons, H., Krachler, M., Burow, M., "Biomonitoring of antimony matrices from terrestrial and limnic ecosystems". *Journal Environ Monit*, v. 1, p. 477-481, 1999.

Fan, Z., "Determination of antimony(III) and total antimony by single-drop microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry". *Analytica Chimica Acta*, v. 585, p. 300–304, 2007.

Feng, Y. L.; Chen, H. W.; Chen, H. Y.; Tian, L. C. "Sequential determination of tin, arsenic, bismuth and antimony in marine sediment material by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using a small concentric hydride generator and L cysteine as prereductant, Fresenius" *Journal Analytical Chemistry*, v.361, p.155-157, 1998.

Feng, Y.L.; Narasaki, H.; Chen, H.Y.; Tian, L.C. "Speciation of antimony (III) and antimony (V) using hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry combined with the rate of pre-reduction of antimony". *Analytica Chimica Acta*, v. 386, p.97-304,1999.

Filella, M, Belzile, N, Chen, Y. *Antimony in the environment: a review focused on natural waters III. Microbiota relevant interactions*. Earth-Science v.80, p.195-217, 2007.

Filella, M; Balzile, N.; Chen, Y. W. "Antimony in the environment: a review focused on natural waters". Earth Science Reviews, v.57, p.125-176, 2002.

Filho, D. W., Torresa, M.A., Filho, E. Z., Pedrosa, R.C.. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*). Brazilian Journal of Medical and Biological. v 34, p. 719–726, 2001.

FIT - Ficha de Informação toxicológica
<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/antimonio.pdf>. Acessado em 14/11/2013.

Fan, Z. "Speciation analysis of antimony (III) and antimony (V) by flame atomic absorption spectrometry after separation–preconcentration with cloud point extraction", *Microchimica Acta*, v. 152, p. 29–33, 2005.

Ferreira, S. L.C.; Dos Santos, W. N.L.; Dos Santos I. F.; Junior, M. M.S.; Silva, L. O.B.; Barbosa, U. A.; De Santana, F. A.; Queiroz, A. F. de S. "Strategies of sample preparation for speciation analysis of inorganic antimony using hydride generation atomic spectrometry". *Microchemical Journal*, v. 114, p. 22–31, 2014.

Förstner, U. & Wittman, G.T.W. "Metal Pollution in the Aquatic Environment". Berlin, Springer Verlag, 2^a ed., p.486, 1983.

Fukushima, A. R.; Azevedo, F. A. História da Toxicologia Parte I, Um Breve Panorama Brasileiro. *Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, p. 2-31, v.1, 2008.

Garbós, S., Bulska, E., Hulanicki, A.. "The effect of palladium modifier on the efficiency of antimony hydride trapping in graphite furnace atomic absorption spectrometry (AAS)". *Journal of Analytical Chemistry*, v. 361, p. 43-46, 1998.

Gonzalvez, A., Cervera, M.L., Armenta, S., De la Guardia, M. "A review of non-chromatographic methods for speciation analysis". *Analytica Chimica Acta*, v. 636, 129–157, 2009.

Corby G. A., “*The metallurgy of antimony*”. Chemie der Erde, v. 72, p. 3-8, 2012.

H. Matusiewicz, M. Krawczyk, “Determination of total antimony and inorganic antimony species by hydride generation in situ trapping flame atomic absorption spectrometry: a new way to (ultra) trace speciation analysis” J. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v.23, p.43-51, 2008.

Harris, D. C. “*Análise Química Quantitativa*”. Rio de Janeiro, LTC-Livros Técnicos e Científicos, 2008.

Haygarth, R. M.; Rowland, A. D.; Sturup, S.; Jones, K. C. “*Comparison of instrumental methods for the determination of total selenium in environmental samples*”. Analyst. v. 118, p. 1303-1308, 1993.

Holak, W. “*Gas-Sampling Technique for Arsenic Determination by Atomic Absorption Spectrophotometry*”. Analytical Chemistry, v.41, p.1712, 1969.

Hou, H., et al., “*Concentrations of Ag, In, Sn, Sb and Bi, and their chemical fractionation in typical soils in Japan*”. European Journal of Soil Science, v. 57, p. 214-227, 2006.

IUPAC Recommendations 2000. Pure Appl. Chem., v.72, p.1453–1470, 2000.

Jobling, M. “*Environmental biology of fishes*”. Chapman & Hall, London, p.455, 1995.

Kalihne, R.; Henrion, G.; Hulanicki, A.; Garbo, S.; Walcerz, M. “*Comparison of AAS with hydride concentration in a graphite furnace with other spectrometric techniques*”. Spectrochimica Acta Part B, v. 52, p. 1509 – 1516, 1997.

Krachler, M., Zheng, J., Fisher, D. and Shotyk, W. ‘*Natural background levels of atmospheric antimony, variation with climate change and modern enrichments revealed by age-dated snow and ice samples from Devon Island, Arctic, Canada*’. Global Biogeochemical Cycles, v. 22, p.1015, 2008.

Krachler, M.; Burow M.; Emons, H. “*Development and evaluation of an analytical procedure for the determination of antimony in plant materials by hydride generation atomic absorption spectrometry*”. Analyst, v.124, p.777 - 782, 1999.

Krachler, M.; Rausch, N.; Feuerbacher, H.; Klemens, P. “*A new HF-resistant tandem spray chamber for improved determination of trace elements and Pb isotopes using inductively coupled plasma-mass spectrometry*”. Spectrochimica Acta Part B, v. 60, p. 865-869, 2005.

Kratzer, J.; Dedina, J. “*Stibine and bismuthine trapping in quartz tube atomizers for atomic absorption spectrometry – Method optimization and analytical applications*”. Spectrochimica Acta Part B, v. 63, p. 843–849, 2008.

Kula, I.; Arslan, Y.; Bakirdere, S.; Ataman, O.Y. “*A novel analytical system involving hydride generation and gold-coated W-coil trapping atomic absorption spectrometry for selenium determination at ng Γ¹ level*”. Spectrochimica Acta Part B, v. 63, p. 856–860, 2008.

Kumar, A. R.; Riyazuddin, P. “*Chemical interferences in hydride- Generation atomic spectrometry Trends in Analytical Chemistry*”. Trends in Analytical Chemistry v. 29, p.166-176, 2010.

Li, Zhong-Xi; Guo, Yue-an. “*Simultaneous determination of trace arsenic, antimony, bismuth and selenium in biological samples by hydride generation-four-channel atomic fluorescence spectrometry*”. Talanta, v. 65, p. 1318–1325, 2005.

Li, N., Fang, G. Z., Zhu, H. P., Gao, Z. Z. & Wang, S. *Determination of As(III) and As(V) in water samples by flow “injection online sorption preconcentration coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry”*. Microchimica Acta, v. 165, p. 135-141, 2009.

Limongi, J. P. Em Farmacodinâmica; Corbett, C. E., ed. Livraria Editora, 1973.

Loska, K., Wiechuła D, Korus I., "Antimony concentration in farming soil of Southern Poland". Bull Environ Contam Toxicol, v. 72, p. 858-865, 2004.

Lu, C. Y., Yan, X. P., Zhang, Z. P., Wang, Z. P. & Liu, L. W. "Flow injection online sorption preconcentration coupled with hydride generation atomic fluorescence spectrometry using a polytetrafluoroethylene fiber-packed microcolumn for determination of Se(IV) in natural water". Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v. 19, p. 277-281, 2004.

Mantelatto, F. L. M.; Fransozo, A. "Characterization of the physical and chemical parameters of Ubatuba Bay, northern coast of São Paulo state, Brazil". Revista Brasileira de Biologia, v. 59, p. 23-31, 1999.

Marsden, P. D.; "Da necessidade de se adotar e divulgar esquemas terapêuticos para tratamento de leishmaniose tegumentar no Paraná". Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 18, p. 187-195, 1985.

Mason, C. F. "Biology of freshwater pollution". Londres, Longman, 3^a.ed, 1996.

Matsubara, T. C. M. "Estudos sobre a determinação de antimônio em amostras ambientais pelo método de análise por ativação por nêutrons. Validação da metodologia e determinação da incerteza da medição". Dissertação de mestrado, Instituto de Pesquisa Energéticas Nucleares. 2011.

Matusiewicz, H.; Krawczyk, M. 'Determination of total antimony and inorganic antimony species by hydride generation in situ trapping flame atomic absorption spectrometry: a new way to (ultra)trace speciation analysis'. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v. 23, p. 43-53, 2008.

Mendes, A. S. R. "Implementação e validação de métodos analíticos". 2011. Disponível em: <<http://www3.uma.pt/valimed/livro%202004/artigo6-AR.pdf>>. Acesso em: 30/12/ 2013.

Menezes, D. C. "Síntese e caracterização de complexos ditiocarbamatos de Sn (IV), In (III), Ga (III) e metais de transição: decomposição térmica e perfil farmacológico *in vitro*". Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.

Miekeley, N., S. R. Mortari and A. O. Schubach. "Monitoring of total antimony and its species by ICP-MS and on-line ion chromatography in biological samples from patients treated for leishmaniasis". Analytical and Bioanalytical Chemistry, v. 372, p. 495, 2001.

Miravet, R., Fermín, J., Sánchez, L., Rubio, R., "Comparison of pre-reducing agents for antimony determination by hydride generation atomic fluorescence spectrometry". Analytica Chimica Acta v. 511, p. 295–302, 2004.

Montserrat Filella, Nelson Belzile, Marie-Claire Lett. "Antimony in the environment: A review focused on natural waters. III. Microbiota relevant interactions". Earth-Science Reviews, v. 80, p. 195–217, 2007.

Moreira, M. B. "Determinação de Selênio em peixes de rio Madeira por voltametria de redissolução catódica". Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, 1994.

Nakahara, T., Kikiu, N.. "Determination of trace concentrations of antimony by the introduction of stibine into inductively – coupled plasma for atomic emission spectrometry". Analytica Chimica Acta, v. 172, p. 127-138, 1985.

Narahara, T. "Application of Hydride Generation to the Determination of Trace Concentrations of Arsenic by Inductively- Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry". Anlytic Chimica Acta, v. 131, p. 73-82, 1981.

Nascentes, C. C.; Arruda, M. A. Z.; Nogueira, A. R. A.; Nóbrega, J. Nash, M.J.; Maskall, J.E.; Hill, S.J. "Methodologies for determination of antimony in terrestrial environmental samples". Journal of Environmental Monitoring, v.2, p. 97-109, 2000.

Oliveira, E. de, McLaren J. W., Berman, S. S. "Simultaneous Determination of Arsenic, Antimony, and Selenium in Marine Samples by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry". Analytical Chemistry., v. 55, p. 2047-2050. 1983.

Onish, H.; Heidelberg. K. H. "Antimony in Handbook of geochemistry", Wedepohl, Springer, v. 24, p. 51-58, 1969.

Onishi, H., Sandell, E.B. "Notes on the geochemistry of antimony". *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 8, p. 213-221, 1955.

Pachadzhanov, D. N., M. T. Gazieva, A. S. Dzhulaev, E. A. Pometun, and Kh. B. Kabgov. "Determination of Antimony, Bismuth, and Zinc in Environmental Samples by Atomic Emission Spectrometry". *Journal of Analytical Chemistry*, v. 64, p. 1023–1025, 2009.

Passos, A. S; Neri, T. S.; Maciel, M. V.; Romão, I. L. S.; Lemos, Valfredo Azevedo . "Determination of arsenic in chicken feed by hydride generation atomic absorption spectrometry after pre-concentration with polyurethane foam". *Food Additives & Contaminants. Part A. Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk*, v. 29, p. 1689-1695, 2012.

Passos, A. S. "Determinação de As em amostras de ração de frangos por HG-AAS após pré-concentração em espuma de poliuretano". Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2011.

Patriarca, M.; Menditto, A.; Rossi, B.; Lyonn, T.D.B.; Fell, G.S. "Environmental exposure to metals of newborns, infants and young children". *Microchemical Journal*, v.67, p. 351-361, 2000.

Pereira, R. S. "Poluição hidrica: causas e consequencias – Identificação e caracterização das fontes poluidoras de recursos hídricos. Recursos Hídricos". UFRGS. v. 1, p. 20-36, 2004.

Perez-Corona T.; Madrid, Y.; Camara, C. “Evaluation of selective uptake of selenium (Se(IV) and Se(VI)) and antimony (Sb(III) and Sb(V)) species by baker's yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*)”. *Analytica Chimica Acta*, v. 345, p. 249–255, 1997.

Rath, S., Trivelin, L. A., Rebecca, T. I., Tomazela, D. M., Jesus, M. N. J., Marzal, P. C., “Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte”. *Química Nova*, v. 26, p. 550-555, 2003.

Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C. “Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos”. *Química Nova*, v. 27, p. 771-780, 2004.

Roberts, D. A.; Poore, A. G. B.; Johnston, E. L. “Ecological consequences of copper contamination in macroalgae: effects on epifauna and associated herbivores”. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 25, p. 2470–2479, 2006.

Rocha, T. C. F.; Brito, D. D.; Milanelli, J. C. C. “Mapeamento da sensibilidade ambiental do litoral de Ubatuba-SP a vazamentos de petróleo”. *Revista Brasileira de Cartografia*, v. 63, p. 157-170, 2010.

Smichowski, P., De la Calle-Guntinas, B., Madrid, Y., Cobo, M.G., Camara, C., Spectrochim. “Speciation and preconcentration of Sb(III) and Sb(V) on alumina using phosphoric acid under pH-controlled conditions”. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 49B, p. 1049-1056, 1994.

Santosa, S.J., Mokudai, H., Tanaka, S., “Automated continuos-flow hydride generation with inductively-coupled plasma mass spectrometric detection for the determination of trace amounts of selenium(IV), and total antimony, arsenic and germanium in sea-water”. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry.*, v. 12, p. 409-415, 1997.

Sadegui, M.; Enferadi, M. “Produvptions of ^{122}Sb for the study of environmental pollution”. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. v. 287. p. 585-589, 2010.

Salomons, W. e Forstner, U. "Metals in the Hydrocycle". Spring Verlag, 1984.

Sánchez-Rodrigues, I.; Huerta-Díaz M. A, Choumiline, E.; Holguín-Quiñones O.; Zertuche-González, J. A. "Elemental concentrations in different species of seaweeds from Loreto Bay, Baja California Sur, México: Implications for the geochemical control of metals in algal tissue". Environment Pollution". v. 114, p. 145-160, 2001.

Santos, P.D. "Determinação de espécies de arsênio, antimônio e chumbo em antimonato de meglumina por espectrometria de absorção atômica após extração em fase sólida". Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2006.

Santoyo E, Santoyo-Gutiérrez S. E; Verma, S.P. "Trace analysis of heavy metals in groundwater samples by ion chromatography with post-column reaction and ultraviolet-visible detection" Journal of Chromatography. v. 884, p. 229-241; 2000.

Serfor-Armah, Y."Levels of arsenic and antimony in water and sediment from Prestea, a gold mining town in Ghana and its environs Water, Air, and Soil Pollut". Water, Air, and Soil Pollution v. 175, p. 181-192, 2006.

Site <http://www.quimlab.com.br/guiadoselementos/antimonio.htm>. acessado em 14/11/2013.

Skinner, B. J.; Turekian, K. K. "O Homem E O Oceano- Recursos Químicos da Água do Mar". Cap. 6. Ed. Edgard Bluchar, p. 88-103, 1988.

Disponível em <http://www.doc.ufes.br/agnaldo/oceanos/T-2-Recusos-quimicos.pdf>

Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J. "Fundamentals of analytical chemistry". Orlando: Saunders College Publishing, 800p, 1996.

Suess, H.E.; Urey, H.C. “*Abundances of the elements*”. *Reviews of Modern Physics*. v. 28, p. 53-74, 1956.

Sun, H. W.; Qiao, F. X.; Suo, R.; Li, L. X.; Liang, S. X., “*Simultaneous determination of trace arsenic (III), antimony (III), total arsenic and antimony in Chinese medicinal herbs by hydride generation-double channel atomic fluorescence spectrometry*”. *Analytica Chimica Acta*, v. 505, p. 255-261, 2004.

Takas, I., Pereira, H. B., Luna, A. S., Grinberg, P., Campos, R. C. “*A geração química de vapor em espectrometria atômica*”. *Quimica. Nova*, v. 25, p. 1132-1144, 2002.

Tarley, C. R. T.; Arruda, M. A. Z. “*A Sensitive method for cadmium determination using an On-line polyurethane foam preconcentration system and thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*”. *Analytical Science*, v. 20, p. 961-966, 2004.

Thompson, K. C. & Thomerso. Dr. “*Atomic-absorption studies on determination of antimony, arsenic, bismuth, germanium, lead, selenium, tellurium and tin by utilizing generation of covalent hydrides*”. *Analyst*, v. 99, p. 595-601, 1974.

Van Loon, J. C.; Barefoot, R. R. “*Overview of analytical methods for elemental speciation*”. *Analyst*, v. 117, p. 563-570, 1992.

Vieira, F. de A. “*Estudos sobre o comportamento do antimonato de meglumina no corpo humano e em macacos Rhesus*”. Tese de Doutorado. PUC – RJ, 2008.

Vilarinho, A. L, Baccan, N. “*Estudos dos parâmetros analíticos para determinação de antimônio por AAS com gerção de hidretos utilizando análise por injeção em fluxo*”. Tese de doutorado. Unicamp- SP. 2001.

Ure, A. M. , Quevauviller, P. H.; Muntau, H.; Griepink, B. . “*Speciation of Heavy Metals in Soils and Sediments. An Account of the Improvement and Harmonization of Extraction Techniques Undertaken Under the Auspices of the*

BCR of the Commission of the European Communities". International Journal of Environmental Analytical Chemistry, v. 51 p. 135-151, 1993.

Wakabara, Y.; Tararam A. S.; Takeda A. M. "Comparative study of the amphipod fauna living on *Sargassum* of two Itanhaém shores, Brazil". Journal of Crustacean Biology, v. 3, p. 602-607, 1983.

Walker, C.H.; Hopkin, S.P.; Sibly, R.M.; Peakall, D.B. "Principles of ecotoxicology". Taylor & Francis, v. 7, p. 321-329, 1996.

Wedepohl, LM, Yuen, H., Irwin G., "Frequency Dependent Transformation Matrices for Untransposed Transmission Lines Using Newton-Rapson Method". IEEE Transactions on Power Systems, v. 11, p. 1538-1544, 1996.

Welz, B.; Melcher, M. "Investigations and atomization mechanisms of volatile hydride-forming elements in a heated quartz cell". Analyst, v. 108, p. 213-220, 1983.

Welz, B.; Sucmanova, M. "L-Cysteine as a Reducing and Releasing Agent for the Determination of Antimony and Arsenic Using Flow Injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry Part 1. Optimization of the Analytical Parameters". Analyst, v. 118, p. 1417-1423, 1993.

Zhang, L.; Morita, Y.; Sakuragawa, A.; Isozaki, A. "Inorganic speciation of As (III, V), Se (IV, VI) and Sb (III, V) in natural water with GFAAS using solid phase extraction technology". Talanta, v. 72, p. 723–729, 2007.

Zamprogno, C. "Distribuição e hábitos alimentares dos peixes da zona entremarés de recifes rochosos da praia de Manguinhos, Espírito Santo". Dissertação de Mestrado - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.

Zheng, J., Furuta, N., ohata, M., "Antimony speciation in environmental samples by using high-performance liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry". Analytical. Sciences., v. 16, p. 75-80, 2000a.

Zheng, J., Furuta, N., Ohata, M., "Studies on the speciation of organicantimony compounds in airborne particulate matter by HPLC-ICP-MS". Analyst, v. 125, p.1025-1028, 2000b.