



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**MÁRIO MARQUES DA SILVA JUNIOR**

**DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIAS VISANDO DETERMINAÇÃO E  
ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS**

Salvador

2016

**MÁRIO MARQUES DA SILVA JUNIOR**

**DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIAS VISANDO DETERMINAÇÃO E  
ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química Analítica. Área de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira

Salvador

2016

A minha mãe Ana Maria, a minha esposa Jamile,  
as minhas irmãs Mariana e Maira e meu irmão Henrique,  
meu orientador Prof. Dr. Sérgio Ferreira e a todos os amigos  
que estiveram sempre presentes.

## AGRADECIMENTOS

A minha mãe, que mesmo quando os caminhos foram difíceis e às vezes desmotivantes me incentivou, deu força e me dizia sempre que o único caminho era o estudo, me encaminhado a ser o homem que sou e, principalmente, ter acreditado em mim todos os momentos.

Agradeço a minha esposa Jamile por estar ao meu lado todos esses anos, pelo seu companheirismo, carinho, amor e me apoiar em todos os momentos, nos bons e nos ruins.

Agradeço as minhas irmãs, Mariana e Maira e o meu irmão Henrique que, sempre foram motivo de inspiração para que eu continuasse estudando e com quem sempre pude contar.

Ao meu orientador professor Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira pela paciência, confiança, ensinamentos, a oportunidade de participar do seu grupo de pesquisa e principalmente pela amizade.

Ao meu amigo, padrinho, irmão e colega de laboratório Danilo Leão.

A Laiana, Luana e Arlene pela amizade.

A Lindomar Portugal pela grande amizade e ensinamentos transmitidos.

Aos amigos do GRPQQ pelo apoio e momentos de descontração.

A Margarida e todas as outras pessoas que trabalham no IQ.

Aos amigos do Laboratório 409.

A todos os professores que passaram durante a minha formação.

Ao Curso de Química da Universidade Federal da Bahia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia.

A CAPES, pela concessão da bolsa.

Enfim, quero agradecer a todos que participaram direta ou indiretamente da realização desta etapa da minha vida.

*“Quem costuma vir de onde eu sou às vezes não tem motivos pra  
Seguir... Mas eu sei que vai, que o sonho te traz  
Coisas que te faz Prosseguir... Vai, levanta e anda”*

*(Emicida)*

## RESUMO

O presente trabalho aborda estratégias analíticas para determinação e análise de especiação de antimônio em amostras ambientais. Dentro desta proposta, foram desenvolvidas três metodologias. O primeiro propõe um método para determinação de Sb total em tecido de músculo de peixe usando espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto (HG AAS). A otimização do método foi realizada utilizando planejamento fatorial completo e uma matriz Box-Behnken. O processo de digestão das amostras foi estabelecido empregando radiação micro-ondas assistida utilizando ácido nítrico concentrado. As condições otimizadas permitiram a determinação de Sb total utilizando a técnica de calibração externa, com limites de detecção e de quantificação de 0,8 e 2,6 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente, para uma massa de amostra de 0,20 g e precisão expressa como o desvio-padrão relativo 4,32%, para uma solução de Sb com concentração de 5 µg L<sup>-1</sup>. A exatidão foi confirmada pela análise de CRM de tecido de ostra (NIST 1566b). O método foi aplicado em sete amostras de tecido de músculo de peixes (*Arraia - Rajiformes lasmobranquiomorpha*) adquiridos em duas regiões da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil. O teor de Sb encontrado variou 62 a 370 ng g<sup>-1</sup>. O segundo método propõe um procedimento de extração para a análise de especiação de Sb inorgânicos em amostras de sedimentos utilizando amostragem por suspensão e HG AAS. A etapa de otimização foi realizada empregando planejamento fatorial completo e uma matriz Box-Behnken onde os fatores estudados foram: temperatura de extração, tempo de radiação ultrassom, e concentração de ácido clorídrico. Com as condições otimizadas, espécies de Sb foram extraídas em sistema fechado utilizando ácido clorídrico 6,0 M à temperatura de 70 °C e um tempo de radiação ultrassom de 20 min. A determinação de Sb foi realizada por técnica de calibração externa, com limites de detecção e de quantificação de 0,70 e 2,34 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente, e a precisão expressa como o desvio-padrão relativo de 5,6% para uma solução de Sb com concentração de 6,0 µg L<sup>-1</sup>. A exatidão do método foi confirmada por análise de dois CRM de sedimento para uma massa 0,20 g. O método foi aplicado para a análise de seis amostras de sedimentos coletados no Estuário São Paulo (Bahia, Brasil) e as concentrações variaram de 45,3 a 89,1 ng g<sup>-1</sup> para o Sb total e de 17,7 a 31,4 ng g<sup>-1</sup> para Sb (III). O terceiro método propõe a utilização de um sistema de análise por injeção em fluxo com multiseringa (MSFIA) para análise de especiação inorgânica e determinação de Sb total e orgânica em amostras de solo usando (HG AFS). A etapa de otimização foi realizada utilizando planejamento fatorial completo e matriz Doehlert envolvendo os fatores: concentração de ácido clorídrico e concentrações de borohidreto de sódio e fluxo da amostra. As condições experimentais otimizadas permitiram a determinação de Sb, utilizando a técnica de calibração externa com limites de detecção e de quantificação de 0,9 e 3,1 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente, e precisão expressa como o desvio-padrão relativo de 3,2% para uma solução de Sb 5,0 mg L<sup>-1</sup>. A exatidão do método foi confirmada por análise de CRM de solo e testes de adição/recuperação. O método proposto foi aplicado em amostras de solo coletadas em diferentes locais das Ilhas Baleares, Espanha. Treze amostras foram analisadas e os resultados obtidos variaram de 19 a 46 ng g<sup>-1</sup> para o antimônio orgânico e de 113 a 215 ng g<sup>-1</sup> para o antimônio inorgânico total.

## ABSTRACT

This paper discusses analytical strategies for the determination and speciation analysis of antimony in environmental samples. Within this proposal, it was developed three methodologies. The first proposes a method for determining Sb full in fish muscle tissue using atomic absorption spectrometry with hydride generation (HG AAS). The optimization method was performed using full factorial design and Box-Behnken matrix. The process of digestion of the samples was established using microwave assisted radiation using concentrated nitric acid. The optimized conditions allowed the determination of total Sb using the external calibration technique, with limits of detection and quantification of 0.8 and 2.6 ng g<sup>-1</sup>, respectively, to a sample mass of 0.20 g and accurately expressed as the relative standard deviation 4.32% for a solution with Sb concentration of 5 ug L<sup>-1</sup>. The accuracy was confirmed by oyster tissue CRM analysis (NIST 1566b). The method was applied in seven samples of fish muscle tissue (*Arria - Rajiformes lasmobranquiomorpha*) acquired in two regions of Baía de Todos os Santos, Bahia, Brazil. The Sb content found ranged 62-370 ng g<sup>-1</sup>. The second method proposes an extraction procedure for the speciation analysis of inorganic Sb sediment samples using sampling and HG AAS suspension. The optimization step was carried out using full factorial design and Box-Behnken matrix where the studied factors were: extraction temperature, ultrasound radiation time, and concentration of hydrochloric acid. With the optimized conditions, Sb species were extracted in a closed system using 6.0 M hydrochloric acid at a temperature of 70 ° C and an ultrasonic radiation time of 20 min. The determination of Sb was carried out by external calibration technique, with limits of detection and quantification of 0.70 and 2.34 ng g<sup>-1</sup>, respectively, and the precision expressed as relative standard deviation of 5.6% to one solution with Sb concentration of 6.0 ug L<sup>-1</sup>. The accuracy of the method was confirmed by analysis of two sediment CRM for a mass 0.20 g. The method was applied to the analysis of six samples collected sediment in estuary São Paulo (Bahia, Brazil) and concentrations ranged from 45.3 to 89.1 ng g<sup>-1</sup> for total Sb and 17.7 to 31, 4 ng g<sup>-1</sup> for Sb (III). The third method proposes the use of an injection analysis system with flow multisyringe (MSFIA) for speciation analysis and determination of total inorganic and organic Sb in soil samples using (HG AFS). The optimization step was carried out using full factorial design and Doehlert matrix involving the following factors: the concentration of hydrochloric acid and concentration of sodium borohydride and sample flow. The optimized experimental conditions allowed the determination of Sb, using the external calibration technique limits of detection and quantification of 0.9 and 3.1 ng g<sup>-1</sup>, respectively, and precision expressed as relative standard deviation of 3, for a 2% Sb solution of 5.0 mg L<sup>-1</sup>. The accuracy of the method was confirmed by soil CRM analysis and addition / recovery tests. The proposed method was applied in soil samples collected from different locations of the Balearic Islands, Spain. Thirteen samples were analyzed and the results ranged 19-46 ng g<sup>-1</sup> for organic antimony and 113-215 ng g<sup>-1</sup> for total inorganic antimony.



## LISTA DE FIGURA

Figura 1– Possíveis geometrias moleculares para compostos de antimônio .....	21
Figura 2 - Representação esquemática do espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS). 1- lâmpada de xénon de arco curto, 2- Lâmpada de cátodo oco (opcional), 3- espelhos elíptica, 4- atomizador, 5- fenda de entrada, 6- espelhos parabólicos, 7- prisma, 8- espelhos rebatíveis e fenda intermediária, 9- rede echelle e 10 detector CCD. Fonte - (WELZ et al., 2005) .....	36
Figura 3 - Representação gráfica do Planejamento Box-Behnken. Fonte - FERREIRA, 2015. ....	47
Figura 4 – Representação do planejamento de matriz Doehlert .....	51
Figura 5 – Representação do modulo Multiseringa para análise de injeção em fluxo MSFIA. ....	53
Figura 6 – Sistema Lab-on-Valve (LOV). Fonte (CERDÀ; AMALIA, 2009) .....	53
Figura 7 - Desenho esquemático do sistema de geração de vapor frio de mercúrio utilizando módulo HS50 adaptado e acoplado ao HR-CS AAS. Fonte: SILVA 2012.	55
Figura 8 – Gráfico de Pareto do planejamento fatorial completo para determinação de antimônio em amostras de tecido de músculo de peixe.....	59
Figura 9 – Superfícies de respostas obtidas através da matriz Box-Behnken .....	62
Figura 10 – Amostrador utilizado para coleta de sedimento.....	68
Figura 11 – Gráfico de Pareto do planejamento fatorial completo para otimização da extração de antimônio. ....	71
Figura 12 – Superfícies de resposta obtidas pelo planejamento Box-Behnken para otimização de extração de antimônio em sedimento.....	74
Figura 13 – Sistema MSFIA – LOV para determinação e análise de especiação de antimônio.....	82
Figura 14 – Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial completo $2^3$ para otimização das condições experimentais para geração de hidreto no sistema MSFIA-LOV HG AFS.....	89
Figura 15 – Superfícies de resposta gerado a partir do planejamento Doehlert para o sistema MSFIA-LOV HG AFS .....	91

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características físico-químicas do antimônio .....	20
Tabela 2 – Estrutura química dos compostos de antimônio utilizados no tratamento da Leishmaniose. ....	23
Tabela 3 - Espécies químicas mais comuns de antimônio encontradas sistemas ambientais. Adaptada de WILSON et al., (2010).....	24
Tabela 4 – Problemas relacionados à exposição de antimônio.....	28
Tabela 5 – Valores limites de contaminação de antimônio estabelecidos.....	29
Tabela 6 – Determinação de antimônio em diversos tipos de amostra ambiental.....	32
Tabela 7 – Trabalhos de determinação de antimônio utilizando espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS).....	37
Tabela 8 – Determinação de antimônio utilizando geração de hidreto em diversos tipos de amostra.....	41
Tabela 9 - Exemplo de matriz de planejamento fatorial completo ( $2^2$ ).....	45
Tabela 10 - Exemplo de matriz de planejamento Box-Behnken para 3 fatores.....	48
Tabela 11 – Matriz do planejamento Doehlert para dois fatores. ....	49
Tabela 12 – Programa de aquecimento para digestão por microondas das amostras de tecido de músculo de peixe. ....	57
Tabela 13 – Planejamento fatorial completo $2^3$ para determinação de antimônio em tecido de músculo de peixe.....	58
Tabela 14 - Matriz do planejamento Box-Behnken para otimização do procedimento de geração de hidreto na determinação de antimônio em amostras de tecido de músculo peixe. ....	61
Tabela 15 – Valores das condições experimentais ótimas para determinação de antimônio em amostras de tecido de músculo de peixe. ....	63
Tabela 16 – Determinação de antimônio em amostras de tecido de músculo de peixe coletadas na Baía de todos os Santos. ....	65
Tabela 17– Planejamento fatorial completo $2^3$ para otimização do processo de extração de espécies de antimônio.....	70
Tabela 18 - Planejamento Box-Behnken para otimização do processo de extração de antimônio em amostras de sedimento.....	73
Tabela 19 – Valores estabelecidos para extração de antimônio em amostras de sedimento.....	75

Tabela 20 – Valores de LD, LQ e RSD (%)para o método proposto. ....	76
Tabela 21 – Valores de antimônio total certificados e valores encontrados pelo método de extração de antimônio em amostras de sedimento. ....	76
Tabela 22 – Valores de adição/recuperação para antimônio em amostras de sedimento. ....	77
Tabela 23 – Análise de especiação de antimônio em sedimento do Estuário São Paulo (Bahia, Brasil). ....	78
Tabela 24– sequência operacional do procedimento automático para determinação e análise de especiação de Sb usando MSFIA-LOV HG AFS. ....	86
Tabela 25 – Planejamento fatorial completo 2 <sup>3</sup> para otimização das condições experimentais para geração de hidreto no sistema MSFIA-LOV HG AFS. ....	88
Tabela 26 – Matriz Doehlert para otimização das condições experimentais para geração de hidreto no sistema MSFIA-LOV HG AFS. ....	90
Tabela 27 – Valores otimizados para determinação e análise de especiação de antimônio em amostras de solo usando MSFIA-LOV HG AFS. ....	92
Tabela 28-Testes de adição e recuperação usando cinco amostras de solo. ....	93
Tabela 29 - Determinação de Sb total inorgânico, Sb total orgânico, Sb (III) e Sb (V) em amostras de solo utilizando o sistema MSFIA-LOV HG AFS. ....	95

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica ( <i>Atomic Absorption Spectrometry</i> )
<b>ABS</b>	Absorvância
<b>AFS</b>	Espectrometria de Fluorescência Atômica ( <i>Atomic Fluorescence Spectrometry</i> )
<b>ET AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica ( <i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i> )
<b>FAAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama ( <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> )
<b>HR-CV AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica de Fonte Contínua e Alta Resolução com Vapor Frio ( <i>Cold Vapor High-Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry</i> )
<b>HR-GF AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua e Forno de Grafite ( <i>High Resolution Continuous Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i> )
<b>ICP-MS</b>	Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado ( <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> )
<b>ICP OES</b>	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado ( <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> )
<b>HG-LIBS</b>	Espectrometria de Quebra Induzida por Lazer ( <i>Hydride Generation Laser-Induced Breakdown Spectrometry</i> )
<b>APGD</b>	Descarga Luminescente A Pressão Atmosférica ( <i>Atmospheric Pressure Glow Discharge</i> )
<b>GPCL</b>	Quimioluminescência Conduzida Sobre Fase Gasosa ( <i>Conducted On The Gas Phase Chemiluminescence</i> )



## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2. OBJETIVO</b> .....	<b>18</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>20</b>
3.1 ANTIMÔNIO .....	20
3.2 ANTIMÔNIO EM SISTEMAS AMBIENTAIS.....	24
3.2.1 Antimônio nos sistemas biológicos .....	25
3.2.2 Toxicidade do antimônio .....	26
3.2.3 Exposição ao antimônio e seus efeitos .....	27
3.2.4. Antimônio em solo .....	29
3.2.5. Antimônio em água .....	30
3.2.6. Antimônio na atmosfera.....	31
3.3 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO .....	33
3.3.1. Espectrometria de absorção atômica .....	34
3.3.2 Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua .....	35
3.3.3. Espectrometria de fluorescência atômica.....	37
3.4 TÉCNICA DE GERAÇÃO DE HIDRETOS.....	38
3.5. ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO.....	42
3.6 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA .....	44
3.6.1. Planejamento fatorial completo de dois níveis ( $2^k$ ) .....	45
3.6.2. Metodologia de superfície de resposta .....	46
3.6.3. Planejamento Box-Behnken .....	46
3.6.4. Planejamento Doehlert.....	49
3.7. MÉTODOS DE ANÁLISE EM FLUXO.....	51
3.7.1 Técnicas de análise em fluxo com injeção multiseringas - MSFIA .....	52
<b>4. OTIMIZAÇÃO DA ESTRATÉGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE Sb TOTAL EM TECIDOS DE MÚSCULO DE PEIXES UTILIZANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETO</b> .....	<b>54</b>
4.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	54
4.1.1. Instrumentação .....	54
4.1.2. Reagentes e soluções .....	55
4.1.3 Preparo das amostras de tecido de músculo de peixe. ....	56
4.2. OTIMIZAÇÃO E RESULTADOS PARA DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS DE TECIDO DE MUSCULO DE PEIXE.....	57
4.4. FIGURAS DE MÉRITO .....	63
4.5. APLICAÇÃO DO MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM TECIDO DE MÚSCULO DE PEIXE .....	64
<b>5. ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO INORGÂNICO EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS DO ESTUÁRIO SÃO PAULO, BAHIA, BRASIL</b> .....	<b>66</b>
5.1 INSTRUMENTAÇÃO.....	66
5.2 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	66
5.3. COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS.....	67
5.3.1 Coleta das amostras.....	67
5.3.1. Preparo das amostras para determinação de antimônio inorgânico.....	68

5.4. OTIMIZAÇÃO E RESULTADOS PARA DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO MARINHO. ....	69
5.5. FIGURAS DE MÉRITO .....	75
<b>6. SISTEMA AUTOMATIZADO EM LINHA PARA DETERMINAÇÃO E ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO EM ANTIMÔNIO ORGÂNICO E INORGÂNICO TOTAL EM AMOSTRAS SOLO EMPREGANDO HG AFS .....</b>	<b>79</b>
6.1. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	79
6.1.1. <b>Instrumentação</b> .....	79
6.2. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	82
6.3. COLETA E TRATAMENTO DAS AMOSTRAS .....	83
6.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	87
6.5.1. <b>Otimização dos resultados para determinação e análise de especiação de Sb usando MSFIA-LOV HG AFS.</b> .....	87
6.5.2. <b>Características analíticas</b> .....	92
6.6. APLICAÇÃO DO METODO DE DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS DE SOLO.....	94
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>96</b>
<b>REFERÊNCIA .....</b>	<b>99</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A problemática sobre a crise ambiental tem origem devido no atual modelo de sociedade que foi construída ao longo dos anos. Dentre as principais características, tais como o consumo ilimitado de recursos primários, principalmente energéticos e minerais, como também produtos provenientes de combustíveis fósseis, o crescimento acelerado das cidades e a grande concentração industrial na área urbana, a grande demanda dos avanços tecnológicos que acarreta um acelerado processo de criação de novos materiais e com isso, a produção de mais e novos resíduos. Como consequência, nos últimos anos, podem ser observados impactos desse consumo acelerado no meio ambiente tais como fenômenos de mudanças climáticas devido a diminuição da camada de ozônio, degradação do solo devido a grandes áreas de desflorestamento e a redução da biodiversidade (NUNES et al., 2010).

Devido a esses problemas, uma série de novos componentes denominados Contaminantes Emergentes vem sendo despejados na natureza e são indicativos de efeitos da atividade antrópica. Esses contaminantes emergentes geralmente são provenientes de produtos farmacêuticos, materiais de limpeza doméstica e higiene pessoal, hormônios, novos agrotóxicos, nanomateriais, metais e metalóides, derivados de colesterol e subprodutos relativos à atividade industrial (SODRÉ et al., 2010). A grande maioria ainda não está incluída em sistemas de monitoramento de rotina, tampouco existe legislação de controle.

Dentre os contaminantes emergentes, alguns compostos estão sendo classificados devido ao seu potencial de interagir e alterar algumas funções em sistemas biológicos. O antimônio, em geral, acumula-se em órgãos vascularizados e tecidos. Após a absorção, os sais trivalentes ligam-se aos eritrócitos e têm grande afinidade pelas células. Dessa forma a exposição ao Sb (III) pode ser prejudicial às células do organismo, particularmente as do coração, fígado, rins e pulmões, embora o mecanismo de ação deste ainda não está bem elucidado (LÉONARD A, 1996).

Na natureza, o antimônio é encontrado principalmente na forma de sulfetos que possuem grande estabilidade e são pouco solúveis, sendo o principal minério a



estibinita ( $\text{Sb}_2\text{S}_3$ ), encontrado em grandes minas na China, México e Bolívia. Sua distribuição na crosta terrestre se encontra em  $1 \text{ mg Kg}^{-1}$ , integrando uma grande variedade de minerais, como minério de ferro, prata, cobre, níquel, ouro e chumbo, podendo também estar presente em rochas calcárias. É utilizado largamente em indústrias como componentes de baterias e acumuladores, em fogos de artifício, pigmentação em tintas, vulcanização da borracha, catalisadores automotivos e em produtos farmacêutico (KLEIN; DUTROW, 2011).

Devido à baixa concentração deste metal em amostras ambientais e biológicas, sua determinação mostra-se um trabalho ainda mais laborioso, havendo da mesma maneira a necessidade do uso de técnicas analíticas cada vez mais sensíveis. Desta forma, as técnicas espectroanalíticas se destacam pela sua sensibilidade e capacidade de análises em nível traço, como a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP MS), a espectrometria de fluorescência atômica (AFS), a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) e a espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS). Essas técnicas agregam vantagens, como baixos limites de detecção e quantificação (ULUSOY; AKSOY; AKÇAY, 2013).

Os parâmetros operacionais dos equipamentos utilizados nestas técnicas analíticas podem ser otimizados de forma univariada, estudando cada fator de forma singular fixando-se os outros, ou de forma multivariada, na qual todos os fatores escolhidos como variáveis são otimizados simultaneamente, ou seja, todos são estudados ao mesmo tempo com a aplicação de diversos experimentos, o que possibilita uma análise substancial de como cada fator se comporta e até mesmo as suas interações (FERREIRA et al., 2007).

## 2. OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver estratégias analíticas visando a determinação e análise de especiação de antimônio em amostras ambientais, empregando técnicas de espectrometria atômica.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Empregar técnicas espectrométricas, como absorção e fluorescência atômica, para determinação e especiação de antimônio em amostras ambientais.
- Desenvolver um procedimento de preparo de amostra utilizando ácido nítrico e radiação de micro-ondas para determinação de antimônio total em amostras de peixe da região da Baía de Todos os Santos.
- Empregar planejamento fatorial completo e matriz Box-Behnken para otimizar as condições de geração de vapor de hidreto utilizando ácido nítrico para determinação de antimônio por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e geração de hidreto (HR HG-AAS);
- Desenvolver um método utilizando radiação por ultrassom para extração de antimônio em sedimento marinho utilizando metodologia de otimização multivariada;
- Aplicar análise de especiação para determinar as espécies de antimônio inorgânico presentes em amostras de sedimento do estuário São Paulo da Baía de Todos os Santos;
- Propor um sistema de análise de injeção por fluxo com multiseringa (MSFIA) para análise de antimônio orgânico total e espécies inorgânicas em amostras de solo

- Utilizar resina de troca catiônica para a retenção de compostos orgânicos de antimônio.
- Aplicar o sistema proposto em amostras de solo da cidade de palma de Maioca, Espanha.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 ANTIMÔNIO

O antimônio é um metal não abundante na crosta terrestre, sua ocorrência natural pode ser comparada as concentrações de cádmio, geralmente pode ser encontrado em minérios de outros metais na forma de sulfetos. Ele pode ser empregado como camada protetora em aço servindo de metal de sacrifício na oxidação impedindo a ferrugem e também muito utilizado em ligas metálicas de estanho e chumbo(LEE, 2000).

O antimônio está localizado no grupo 15 da tabela periódica, possui coloração branco-prateado, não é bom condutor de calor nem de eletricidade, em condições normais apresenta-se como sólido. Possui configuração eletrônica  $[\text{Kr}]4d^{10}5s^25p^3$ . Devido aos orbitais  $5s^25p^3$ , o antimônio pode apresentar vários estados de oxidação, (-III, 0, III e V), porém é encontrado principalmente nas formas Sb(III) e Sb(V) (KRACHLER; EMONS; ZHENG, 2001). A Tabela 1 mostra algumas características físico-químicas do antimônio.

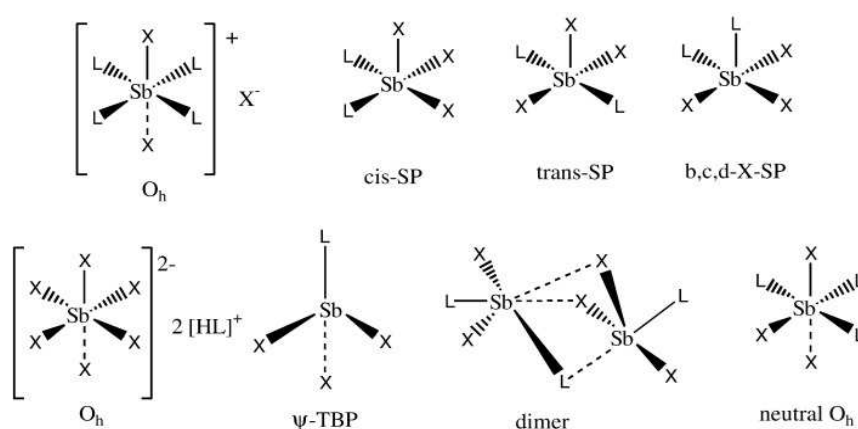
**Tabela 1** - Características físico-químicas do antimônio

<b>Massa atômica (g mol<sup>-1</sup>)</b>	121,75
<b>Número Atômico</b>	51
<b>Isótopos Estáveis</b>	<sup>121</sup> Sb (57,21) <sup>123</sup> Sb (42,78)
<b>Ponto de fusão (°C)</b>	631
<b>Ponto de ebulição (°C)</b>	1750
<b>Estado de oxidação</b>	0, -3, +3, +5
<b>Raio iônico (pm)</b>	140
<b>Densidade (g/cm<sup>3</sup>)</b>	6.53

Energia de Ionização (kJ mol <sup>-1</sup> )	
Sb → Sb <sup>+</sup>	834
Sb <sup>+</sup> → Sb <sup>2+</sup>	1595
Sb <sup>2+</sup> → Sb <sup>3+</sup>	2440
Sb <sup>3+</sup> → Sb <sup>4+</sup>	4260
Sb <sup>4+</sup> → Sb <sup>5+</sup>	5400
Sb <sup>5+</sup> → Sb <sup>6+</sup>	10400

Devido a característica de apresentar diversos de estados de oxidação, o antimônio pode apresentar uma geometria molecular bastante variada (Figura 1), o que resulta numa grande formação de complexos(HADJIKAKOU et al., 2015).

**Figura 1– Possíveis geometrias moleculares para compostos de antimônio**



Dentre as estruturas sugeridas para os alótropos de antimônio, a mais estável a temperatura ambiente é a hexagonal (ATKINS, 2008). Outra espécie aleotrópica do antimônio pode ser formada a elevadas pressões onde apresenta uma estrutura hexagonal de empacotamento compacto (LEE, 2000).

O uso do antimônio em atividades industriais vem numa crescente. A maior parte do antimônio usado em atividades industriais é destinada à produção do trióxido de antimônio que é usado em larga escala em pigmentação de tintas,

baterias e inibidores de chama. Estima-se que a produção anual de antimônio está em torno de 197 mil toneladas, tendo como principais produtores a China, Bélgica, México e Bolívia. Dentre os grandes produtores, a China põe-se em destaque pelo seu grande nível de produção, onde em 2014 girou em torno de 59.400 toneladas de antimônio (GEOLOGICAL SURVEY, 2015). Isso ocorre devido ao alto grau de exploração de diversas minas espalhadas em seu território como, por exemplo, a mina de Xikuangshan (XKS) na província de Hunan, que ela está correlacionada a diversos problemas de contaminação na região e em torno da mina (LIU et al., 2011; QI et al., 2011).

As aplicações industriais mais antigas do antimônio incluem ligas preparadas para utilização em soldas, balas e mancais. Na fabricação de vidro, elementos como antimônio, são utilizados como agentes de compensação, deslocamento e refino (DOS SANTOS et al., 2013). O antimônio e derivados também podem ser encontrados em diversas peças de veículos automotivos, uma vez que melhora a dureza e a resistência mecânica de ligas à base de chumbo. O uso de compostos desse metal, como o  $Sb_3S_2$ , são em ligas de rolamentos de motor, produção de pastilhas de freio ou em revestimentos como lubrificantes, a fim de reduzir possíveis vibrações e dar mais estabilidade nas frenagens. Estima-se que nessas pastilhas haja até 7% de antimônio e seus derivados (FUJIWARA et al., 2011).

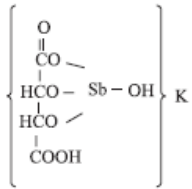
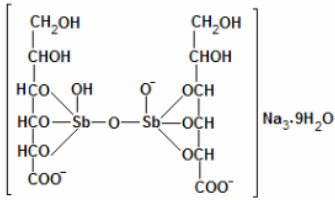
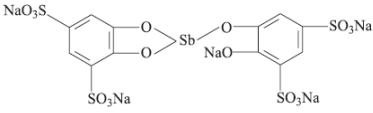
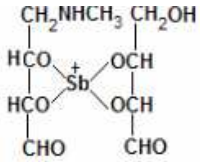
Além disso, ele é usado na fabricação de materiais semicondutores para produção de diodos, em que a presença de antimônio confere uma maior resistência e dureza. O trióxido pode ser encontrado em retardantes de chama em produtos têxteis, papéis e plástico (FILLELA; BELZILE; CHEN, 2002).

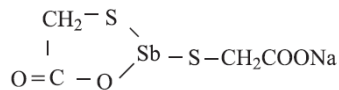
Na indústria, o antimônio é utilizado na produção de polietileno tereftalato, formado a partir da esterificação direta do etileno glicol e o ácido tereftálico, a polimerização acontece com a presença de um catalisador de antimônio (ROMÃO; SPINACÉ; PAOLI, 2009). A indústria petrolífera utiliza o antimônio como catalisador no craqueamento catalítico em leito de fluido (FCC), sendo utilizado impregnado num suporte para redução de  $NO_x$ , podendo ser encontrado na forma de óxidos ( $Sb_2O_3$  ou  $Sb_2O_5$ ) (STEEN; KUWERT; WILLAMS, 1997). Na produção de acrinonitrilas, a partir da glicerina, atuando como catalisador de amoxidação para manter o oxigênio retido na superfície do sólido (catalisador multimetálico)

(GRASSELLI, 1999). Trióxido de antimônio ainda é usado como apassivador de metais em unidades de craqueamento da Petrobrás, sendo que em quase todas as unidades o óxido de Sb (III) já foi substituído pelo do Sb (V) (CERQUEIRA et al., 2001).

Na medicina, compostos organometálicos de antimônio vêm sendo utilizados no tratamento de doenças como Esquistossomose, Ascaridíase e Leishmaniose, sendo a última uma doença infecciosa encontrada em diversos países, principalmente em países de clima quente e países de clima temperado. A Leishmaniose é transmitida através de insetos vetores, os flabotomíneos, conhecidos como mosquito palha, no Brasil (HASSAN, A.M. et al., 1995). A Tabela 2 mostra os compostos de antimônio mais utilizados no tratamento da Leishmaniose.

**Tabela 2** – Estrutura química dos compostos de antimônio utilizados no tratamento da Leishmaniose.

Composto	Nome
	Tartarato de antimônio de potássio
	Estibogluconato de sódio
	Antimoniato debis-catecol-3,5-dissulfonato sódico
	Antimoniato de N-metil-glucamina



Tioglicolato de sódioe antimônio

### 3.2 ANTIMÔNIO EM SISTEMAS AMBIENTAIS

O antimônio pode estar presente no meio ambiente, devido às atividades humanas ou resultantes de processos naturais como degradação e decomposição de rochas, erosão de solos, erupções vulcânicas (CHON, 2002; WILSON et al., 2010). O surgimento de antimônio no meio ambiente, devido a atividade humana, muitas vezes é superior aos processos naturais (HE; YANG, 1999). Por exemplo, emissões vulcânicas representam cerca de 5 a 6% de antimônio lançados na atmosfera, enquanto emissões associadas a ação antropogênica está por volta de 21% (SMICHOWSKI; MADRID, 1998), sendo essas emissões correlacionadas, na maioria das vezes, a atividade industrial. Na Tabela 3 são apresentadas as espécies químicas mais comuns de antimônio que podem ser encontradas no meio ambiente.

**Tabela 3** - Espécies químicas mais comuns de antimônio encontradas sistemas ambientais. Adaptada de WILSON et al., (2010).

Forma	Fórmula
<b>Minerais</b>	$\text{Sb}_2\text{O}_4 / \text{Sb}_2\text{O}_3(\text{cúbico}) / \text{Sb}_2\text{O}_3(\text{ortorrômbico}) / \text{Sb}_2\text{S}_3$
<b>Espécies aquosas (estado de oxidação +5)</b>	$\text{Sb}(\text{OH})_6^- / \text{Sb}(\text{OH})_5$
<b>Espécies aquosas (estado de oxidação +3)</b>	$\text{Sb}(\text{OH})_3 / \text{Sb}(\text{OH})_2^+ / \text{Sb}(\text{OH})_4^- / \text{H}_2\text{Sb}_2\text{S}_4^+$



---

<b>Gases</b>	$\text{Sb}(\text{CH}_3)_3 / \text{SbH}_3$
<b>Outras espécies metiladas</b>	$(\text{CH}_3)_3\text{Sb} / (\text{CH}_3)_2\text{Sb}(\text{O})\text{OH} / (\text{CH}_3)\text{SbO}(\text{OH})_2$

---

Outra forma de contaminação pode estar ligada ao transporte natural aéreo, pela qual partículas contendo antimônio podem ser levadas a locais afastados dos seus locais de origem, ou seja, sistemas onde não há fontes de poluição pode-se observar a presença deste metal. Isso pode estar atrelado à incineração de plásticos, que na sua maior parte o antimônio é usado na sua produção, a queima de combustíveis fósseis e seus derivados, na fundição de metais onde pode ser encontrado em soldas (SHOTYK et al., 1996). Em estudos para verificar a concentração de antimônio na atmosfera, pode-se observar que a variação da contaminação reflete o aumento da atividade humana, ou seja, deriva da mineração e do uso de combustíveis fósseis (KRACHLER M et. al, 2005).

### 3.2.1 Antimônio nos sistemas biológicos

A atividade do antimônio em sistemas biológicos ainda não está claramente elucidada, nem a forma em que se encontra. Na maior parte dos trabalhos os relatos apresentados são da determinação total de antimônio ou de suas espécies inorgânicas, Sb (III) e Sb (V). Estudos realizados em plantas mostra que as maiores concentrações de antimônio foram encontradas nas partes superficiais, como caule e folhas (HADJIKAKOU, S. K. et.al., 2015). Muitas vezes as concentrações de antimônio encontradas em plantas são baixas, ficam em torno dos limites de quantificação, isso se deve ao fato delas possuírem mecanismos de desintoxicação adquiridos durante a evolução o que faz com que ela possa sobreviver, crescer e se reproduzir em locais contaminados (PRATAS et al., 2005).

Coelho e colaboradores (2014), realizaram estudos em ratos onde uma dosagem de 300 mg de Sb (V)/Kg de peso corporal por dia era administrada via subcutânea. Foi observado que o baço foi o tecido que apresentou maior acumulação de antimônio, seguidos por tecido ósseo e da tireoide. Nos tecidos do

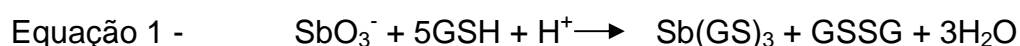
cérebro, pulmões, coração e útero, o acúmulo de antimônio é extremamente baixo, assim como o baço, o fígado também se apresenta como um tecido acumulador de metais (BORBOREMA et al., 2013). O sangue também pode ser considerado outro bioindicador para o antimônio, a causa disso, pode ser a grande afinidade do antimônio trivalente com os eritrócitos (GEBEL, 1997; DIETER et al., 1991).

Pesquisas indicam também, a possibilidade de compostos de antimônio apresentarem um grande potencial cancerígeno, como por exemplo, o trióxido de antimônio que já é classificado como um agente cancerígeno para seres humanos (BOECK; KIRSCH-VOLDERS; LISON, 2003)

### 3.2.2 Toxicidade do antimônio

O conhecimento sobre a toxicidade do antimônio e de seus compostos é limitado e tem sido base para diversos estudos. Conforme for o seu estado de oxidação e aos compostos que os mesmos estejam formando, o seu comportamento toxicológico em sistemas biológicos e ambientais pode ser diferenciado.

O Sb (III) apresenta maior toxicidade que o Sb(V) e isso pode estar relacionado à sua maior afinidade pelos grupos funcionais presentes nas células, o que pode resultar em desativação de possíveis sítios ativos relevantemente funcionais. Tem sido sugerido que em meio biológico o Sb (V) é reduzido a Sb (III) por tióis presentes nos organismos. Segundo a proposta, um dos mais prováveis compostos responsáveis por essa redução seria a glutathiona (GSH) que contem grupos sulfidrilas e um tiol mais predominante no meio intracelular. Assim, a redução resulta numa ligação irreversível do Sb (III) com os grupos sulfidrilas (-SH) (equação 1).



Ao contrário, o Sb(V) permanece livre no plasma e é excretado mais rapidamente (SMICHOWSKI; MADRID, 1998). O Sb (III) é relativamente estável em soluções aquosas, algo que não ocorre com o Sb (V), assim ao sofrer hidrólise os compostos passam a obter a forma de  $\text{Sb(OH)}_3$  e  $\text{Sb(OH)}_6^{-1}$ . O Sb (III) na forma de  $\text{Sb(OH)}_3$  não apresentar nenhuma atividade elétrica, devido a esse fato, é capaz de atravessar as paredes das membranas celulares e isso pode explicar uma das principais causas de o Sb (III) apresentar uma toxicidade mais elevada em comparação ao Sb (V) (GEBEL T, CLAUSSEN K, 1998; SMICHOWSKI; MADRID, 1998).

O antimônio pode acumular em geral, em órgãos vascularizados e tecidos, principalmente rins, fígado, baço e pelo sangue. Após a absorção, os sais trivalentes ligam-se aos eritrócitos e têm grande afinidade pelas células. Dessa forma a exposição ao antimônio pode prejudicar as células do organismo, particularmente as do coração, fígado, rins e pulmões, mas o exato mecanismo de ação ainda não está bem estabelecido. Vale ressaltar que o antimônio na sua forma trivalente, pode apresentar grande efeito cancerígeno. Estudos evidenciam a formação de células cancerígenas em experimentos realizados com ratos, outro fato que realça essa informação é a ocorrência de surgimento de câncer de pulmão em trabalhadores de minas de antimônio (LÉONARD A, 1996; GEBEL, 1997).

Contudo, a utilização de compostos de antimônio em tratamento de doenças ainda é bastante grande, como os tratamentos das diversas variedades de leishmaniose visceral, cutânea e formas mucocutâneas, causadas pelo parasita *Leishmania donovani* afetando diretamente cerca de 2 milhões de pessoas por ano, com 350 milhões de indivíduos em risco em todo o mundo (CROFT, SL; YARDLEY, 2002). Seu tratamento é realizado tendo em sua composição antimônio pentavalente, como por exemplo, a droga a base de estibogluconato de sódio ou antimoniato de meglumina (SHAKED-MISHAN et al., 2001).

### **3.2.3 Exposição ao antimônio e seus efeitos**

A exposição ao antimônio pode ocorrer principalmente por inalação ou via oral, esse tipo de exposição está ligado diretamente às condições de trabalho, em

atividades industriais, mineração, contato com solos ou águas contaminadas ou até mesmo a partir de tratamentos médicos. A Tabela 4 mostra alguns problemas causados pela exposição de antimônio. As vias de intoxicação humana podem ser das seguintes formas:

- Ingestão de antimônio – Causa Náuseas, vômito, gastrite hemorrágica e diarreia
- Inalação por gás – Causa hemólise aguda, insuficiência renal, hemoglobinúria.
- Exposição a poeira e a fumaça – Dor de cabeça, pneumonite, úlceras pépticas e dermatites (algumas mortes súbitas já registradas)

**Tabela 4**–Problemas relacionados à exposição de antimônio

<b>Efeito</b>	<b>Problemas</b>	<b>Referencia</b>
<b>Respiratórios</b>	Bronquite, enfisema pulmonar, tuberculose inativa, aderências pleurais e irritação das vias respiratórias	(GROSS P, 1983)
<b>Cardiovasculares</b>	Aumento relativo da pressão arterial	(BRIEGER H, 1998)
<b>Gastrointestinais</b>	Dores abdominais, vômitos diarreia e úlceras	(GROSS P , 2001)
<b>Dérmicos</b>	Pústulas e erupções no corpo	(ALI, 2016)
<b>Reprodução</b>	Abortos espontâneos e distúrbios menstruais.	(KUPERMAN, 2006)
<b>Câncer</b>	Trióxido de antimônio, possível agente cancerígeno	(BOECK, 2003)

Os limites estabelecidos por algumas agencias fiscalizadoras estão evidenciadas na tabela 5, alguns valores são bastante concordantes, sendo que a variação da concentração permitida para solo leva em consideração as áreas de coleta: área industrial, urbana, residencial e agrícola.

**Tabela 5** – Valores limites de contaminação de antimônio estabelecidos.

<b>Meio</b>	<b>Concentração</b>	<b>Referência</b>
<b>Solo</b>	2 mg kg <sup>-1</sup> - 25 mg kg <sup>-1</sup>	CONAMA 420/2009
<b>Água doce</b>	0,005 mg L <sup>-1</sup>	CONAMA 357/2005
<b>Água potável</b>	0,005 mg L <sup>-1</sup>	Portaria 2914/2011
	5 µg L <sup>-1</sup>	EPA (1999)
	20 µg L <sup>-1</sup>	WHO (2008)
	5 µg L <sup>-1</sup>	ANVISA(2005)
<b>Águas subterrânea</b>	5 µg L <sup>-1</sup>	CONAMA 396/2008
<b>Limites máximos de migração específica</b>	0,04 mg kg <sup>-1</sup>	ANVISA(2010)

### 3.2.4. Antimônio em solo

O solo é uma parte essencial no meio ambiente e serve de base dos mais variados ecossistemas terrestres atuando como a interface entre a biosfera e a litosfera, local onde ocorrem muitos ciclos biogeoquímicos. No entanto, os recentes aumentos nas concentrações e distribuições de produtos derivados da atividade antropogênica e possivelmente tóxicos, em solos, causada pela má gestão dos recursos industriais e de mineração, estão causando preocupação em todo o mundo (BRIKI et al., 2015).

O antimônio se acumula principalmente nas camadas superficiais do solo e a sua concentração vai diminuindo com a profundidade, indicando assim uma correlação entre a sua contaminação e o transporte aéreo. BRIKI e colaboradores (2015) estudaram os níveis de contaminação em solos agrícolas perto de campos de mineração em Hezhang, China. Foram feitas coletas de amostras em diversos níveis do solo, variando até uma profundidade de 40m, foi então observado que as concentrações de antimônio, entre outros elementos, diminuía com a profundidade.

Outro estudo avaliou a concentração e distribuição de diversos tipos de metais em solo urbano na região de Palermo na Itália. As amostras de solo foram coletadas em diversos pontos da cidade, em profundidades que variaram entre 0 a 10 cm, o estudo mostrou que os maiores níveis de concentração foram encontrados nas amostras de solo superficiais (MANTA et al., 2002).

### **3.2.5. Antimônio em água**

As águas apresentam características respectivas as suas zonas de origem, por onde correm, são transportadas ou onde são estocadas. Considerando a elevada influência dos fatores antrópicos na qualidade e características das águas, faz-se necessário, distinguir as suas características naturais daquelas que são introduzidas ao longo do tempo devido à atividade humana. A contaminação da água pode ser ocasionada devido a efluentes domésticos, como materiais de limpeza e de higiene pessoal, efluentes industriais, atividade agrícola (pesticidas e fertilizantes), entre outros (APARECIDA et al., 2010). Os contaminantes químicos não biodegradáveis apresentam uma tendência de acumular-se nos organismos vivos, ou depositando-se em solos e sedimentos afetando assim a qualidade dos mesmos.

Em um estudo, foi feita uma caracterização hidroquímica do funcionamento dos impactos agrícolas no rio Tamisa e efluentes, que é um dos principais rios da Inglaterra. Neste estudo foram realizadas coletas ao longo do rio, que nasce no sul do país e flui até o Mar do Norte, num período de amostragem de dois anos. Neste estudo a parte do rio que passa nas áreas destinadas a agricultura, há um aumento significativo dos contaminantes derivados das atividades agrícolas, dentre os quais o antimônio apresentou um teor na faixa de 0,15 a 38,74  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Essa discrepância se dá relativa aos pontos de coleta onde havia uma maior e menor atividade (NEAL et al., 2000)

A presença de metais em águas naturais pode ocorrer na forma de íons metálicos, compostos organometálicos ou até mesmo em complexos inorgânicos. Eles podem estar também na forma de suspensão em material particulado ou em coloides. Para o antimônio, a interação com o meio em que está, depende muito das

condições físico-químicas, como pH, temperatura, salinidade, concentração de oxigênio dissolvido no meio aquático, assim como a forma com que ele se encontra. Apesar disso, mesmo apresentando diversos tipos de estados de oxidação, os mais encontrados são as formas Sb (III) e Sb (V) na forma de complexos inorgânicos.

### **3.2.6. Antimônio na atmosfera**

A atmosfera é um importante vetor de transporte de material entre as diversas regiões e, como consequência, a população torna-se exposta a metais e metalóides contidas em material particulado no ar que, muitas vezes, apresentam valores muito acima dos níveis naturais. A determinação do antimônio, por sua vez, também faz parte dos poluentes atmosféricos e a sua determinação, bem como suas frações correspondentes a partículas inaláveis, representa um parâmetro muito importante para avaliar as possíveis contaminações. Uma característica importante do antimônio que o diferencia de outros poluentes com grau de toxicidade semelhantes, é que eles não são biodegradáveis no ambiente (THOMASSEN, 1999).

Estima-se que a quantidade de antimônio inalado diariamente é de aproximadamente 0,6 µg, assumindo que o volume médio de ar consumido por um humano seja de 20m<sup>3</sup> de ar, a absorção nos pulmões se encontra em média de 15%, dependendo do tamanho da partícula e solubilidade dos compostos de antimônio. Em crianças com até 5 anos a entrada de ar é relativamente maior o que aumenta a porcentagem de metal inalado (PATRIARCA et al., 2000).

Alguns trabalhos vêm reportando esse tipo de contaminação e seu transporte, Gomez e colaboradores (2005) analisaram os níveis de antimônio em amostras PM-10 em nove pontos na cidade de Buenos Aires cobrindo uma área de 30 Km<sup>2</sup>, foi observado que as maiores concentrações de Sb foram encontrados em pontos onde havia uma maior fluxo de veículo e que os níveis de antimônio sempre estiveram acima dos 0,5 mg/m<sup>3</sup>, definidos pela Segurança e Administração de Saúde Ocupacional dos EUA. Em um estudo realizado no Japão, foi avaliada a distribuição do tamanho do material particulado e das concentrações dos elementos, onde foi discutida particularmente a predominância de antimônio nesse material. Pôde-se

observar que, a distribuição de antimônio ocorria tanto em partículas maiores (3,6 - 5,2  $\mu\text{m}$ ), como em partículas finas (0,5 - 0,7  $\mu\text{m}$ ) (IIJIMA et al., 2009).

Em contrapartida, as informações que se tem do antimônio ao que se refere às suas transformações químicas e seu transporte, nos diversos tipos ambientais e sistemas biológicos, ainda são poucas. Na maior parte dos estudos, o que se relata, geralmente, é a presença das principais formas de antimônio, Sb (III) e Sb (V). Um dos grandes problemas é a escassez de materiais de referência certificado para determinadas espécies de antimônio, ao qual se esteja estudando.

**Tabela 6** – Determinação de antimônio em diversos tipos de amostra ambiental

<b>Amostra / Local</b>	<b>Faixa</b>	<b>Técnica</b>	<b>Referência</b>
<b>Solo de mina / Coreia</b> <b>Solos de hortas / Coreia</b> <b>Solos de controle/ Coreia</b>	6–165 $\mu\text{g g}^{-1}$ 1,4–12,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ 0,9–1,5 $\mu\text{g g}^{-1}$	ICPOES	(JUNG; THORNTON; CHON, 2002)
<b>Solo / Palermo – Itália</b>	21 - 124 $\mu\text{g g}^{-1}$	X-ray diffraction	(MANTA et al., 2002)
<b>Solo de agricultura/Hezhang</b>	1,0 – 4,66 $\mu\text{g g}^{-1}$	ICP-MS	(BRIKI et al., 2015)
<b>Solo geoquímico / Turquia</b>	0,42–2000 $\text{mg kg}^{-1}$	ICP-MS	(YAYLAL, 2013)
<b>Solo / França</b>	26 - 1150 $\text{mg kg}^{-1}$	GFAAS	(DENYS et al., 2008)
<b>Solo / Índia</b>	1,0 – 5,4 $\mu\text{g g}^{-1}$	UV–vis	(SHRIVAS; AGRAWAL; HARMUKH, 2008)
<b>Água de rio / Inglaterra</b>	0,15 – 38,74 $\mu\text{g L}^{-1}$	ICP-MS	(NEAL et al., 2000)
<b>Água potável / Espanha</b>	0,23 – 0,56 $\mu\text{g L}^{-1}$	HG AFS	(PORTUGAL et al., 2015)
<b>Água de mar / China</b>	0,214 – 0,440 $\mu\text{g L}^{-1}$	ICP-MS	(GAO et al., 2015)
<b>Água potável / Espanha</b>	4,9 – 5,5 $\mu\text{g L}^{-1}$	Raio-X de reflecção	(MARGUI et al., 2013)
<b>Materialparticulado atmosférico / Brasil</b>	4,32 – 4,60 $\text{ng m}^{-3}$	HG QT AAS	(FERREIRA et al., 2011)
<b>Poeira de estrada / Argentina</b>	1,4 – 20,4 $\mu\text{g g}^{-1}$	FI-HG-AAS	(FUJIWARA et al., 2011)



### 3.3 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO

Como na maioria das vezes o antimônio encontra-se em concentrações em níveis  $\mu\text{g L}^{-1}$ , a determinação em amostras ambientais e biológicas requer métodos analíticos que apresentem sensibilidade suficiente para detectar as diferentes espécies. Diversas metodologias analíticas têm sido desenvolvidas para a determinação de antimônio nas mais diversas matrizes como sedimento, material biológico, ligas metálicas, medicamentos, alimentos, bebidas e outros. A especiação do antimônio em diferentes matrizes é fundamental, visto que a toxicidade e o comportamento biológico são dependentes do estado de oxidação. Muitos métodos permitem apenas a determinação do elemento em um dos estados de oxidação, sendo o outro determinado indiretamente, por diferença entre o Sb total e o previamente determinado.

Neste sentido, as técnicas hífenadas são promissoras, visto que permitem simultaneamente separar e quantificar as espécies Sb(III), Sb(V) e organoantimoniais, diminuindo assim a introdução de erros provenientes da determinação indireta. As técnicas hífenadas representam uma tendência atual no desenvolvimento de metodologias analíticas, podemos destacar espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP MS), espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e geração de hidreto (HG-GF AAS), espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto (HG AAS), espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidreto (HG AFS), espectrometria de massa com cromatografia líquida de alta resolução (MS HPLC MS), dentre outras. Outras técnicas são aplicadas para separação de espécies orgânicas e inorgânicas como o caso da eletroforese capilar (CE), cromatografia líquida (LC). Algumas técnicas mais complexas propõem a hífenação de três ou mais técnicas como a eletroforese capilar com espectrometria de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (CE-ICP-MS), cromatografia líquida de alta eficiência com espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidreto (HPLC-HG-AFS) e a cromatografia líquida de alta eficiência com espectrometria de absorção atômica e geração de hidreto (HPLC-HG-AAS).

### 3.3.1. Espectrometria de absorção atômica

Diversas técnicas analíticas vem sendo comumente utilizadas para análise e determinação de diversos tipos de espécies de interesse analítico. Entre elas, a espectrometria de absorção atômica (AAS), apresenta-se bem expandida, principalmente, quando utilizada para de determinações de metais em níveis traço e ultra traço em diversas matrizes complexas, sejam matrizes alimentícias, ambientais ou biológicas. A técnica está baseada no princípio de que átomos livres (estado gasoso) formados em um atomizador (que pode variar com a técnica escolhida) absorvem radiação de frequência específica emitida por uma fonte espectral. A quantificação da radiação absorvida pela espécie química obedece diretamente aos princípios da lei de Beer (WELZ; HEITMANN, 2005).

Dentre as técnicas de absorção atômica, as técnicas de espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto (HG AAS), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) se destacam pela ampla utilização.

FERREIRA (2011), propuseram a especiação de antimônio inorgânico em amostras de material particulado atmosférico urbano por amostragem de suspensão, utilizando HG AAS. Neste trabalho, foi aplicado planejamento multivariado para otimização dos fatores envolvidos na formação do hidreto, como fluxo, concentração de borohidreto de sódio e acidez. O método apresentou limite de quantificação de 0,3 e 0,2  $\mu\text{g L}^{-1}$ , para Sb (III) e Sb (V).

Um método foi desenvolvido por DESSUY et al.(2011) para determinar Sb lixiviado em copos de estanho empregando HG AAS. O estudo teve como principal abordagem avaliar a interferências espectrais sofridas pelo antimônio na presença de estanho. O método apresentou limite de detecção de 0,03  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

GARBOS et. al.(2000) utilizaram sorção seletiva de Sb (III) em uma microcoluna empacotada para determinação de antimônio por FAAS em água de poço, após sorvido o antimônio era eluído com  $\text{HNO}_3$ , e levado para o detector por injeção em fluxo, o limite de detecção do método foi comparado com o GF AAS, que apresentaram 0,9  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 0,8  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

Uma metodologia desenvolvida para determinação direta antimônio em soro de rato a fim de avaliar o uso de drogas antimoniais utilizando ET AAS, foi desenvolvida por DA SILVA e colaboradores (2006), as amostras foram diluídas em  $\text{HNO}_3$  1% contendo cloreto de amônio. Neste trabalho, foi utilizada uma mistura de zircônio e rutênio como modificador permanente, o método apresentou massa característica e o limite de detecção de 30 pg e 60 pg, respectivamente, e as recuperações foram próximas de 100%.

### **3.3.2 Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua**

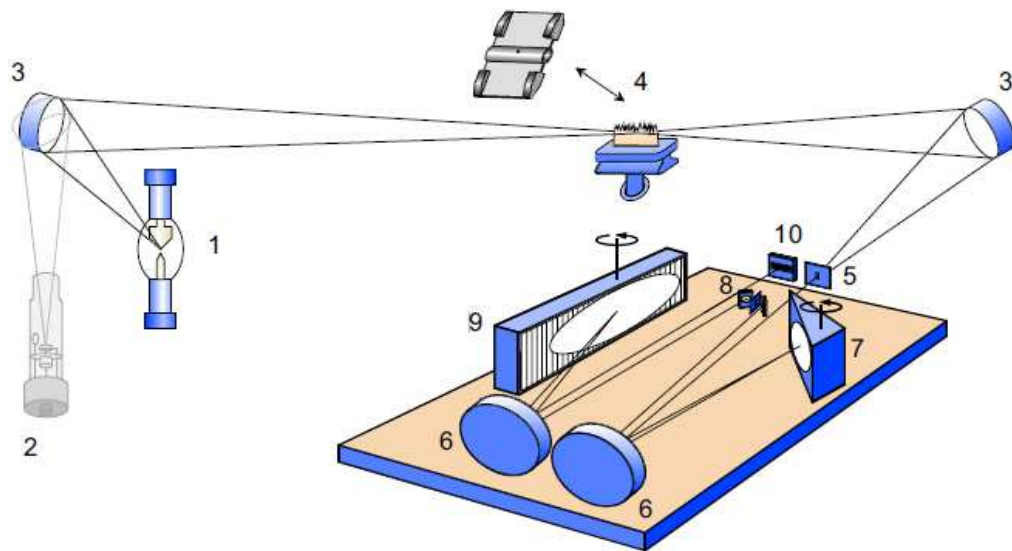
A espectrometria de absorção atômica demonstrou grande crescimento com os espectrômetros de fonte de linha com as lâmpadas de cátodo oco. Porém, o espectrômetro com fonte contínua (CS AAS) foi o primeiro a ser desenvolvido, porém esta técnica começou a ser utilizada depois de uma série de ajustes, onde a mesma tornou-se aplicável. Os principais desafios na época estavam relacionados com a baixa sensibilidade, baixo limite de detecção e quantificação em comparação com espectrometria de absorção atômica com fonte de linha (LS AAS). As linhas espectrais geradas pela lâmpada de arco de xenônio apresentavam sinais ruidosos e os monocromadores possuíam resoluções inferiores para o que seriam necessários e davam resultados insatisfatórios. Depois de superados esses problemas, a técnica começou a ser bastante difundida (WELZ et al., 2005).

O modelo dos espectrômetros utilizados hoje em dia é o dos espectrômetros de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS-AAS), que possuem uma lâmpada de arco curto de xenônio que opera a uma potência de 300 W. Este tipo de lâmpada apresenta uma intensidade três vezes maior que as lâmpadas de cátodo oco, o que proporciona uma grande vantagem como ampla faixa de comprimento de onda, que varia de 190 a 850 nm e uma melhora na razão sinal/ruído (WELZ et al., 2003).

No HR-CS-AAS, a lâmpada opera em um modo chamado hot spot, podendo atingir altas temperaturas. A radiação emitida por ela é direcionada ao monocromador que é composto por um prisma e uma série de redes de difração. Em seguida, a radiação chega a um detector de arranjo linear (CCD) que possui 512

pixels onde 200 são designados a caráter analítico (WELZ et al., 2003, 2005). A configuração deste tipo de equipamento está representada na figura 2, onde mostra o caminho que a radiação percorre até o detector.

**Figura 2** - Representação esquemática do espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS). 1- Lâmpada de xénon de arco curto, 2- Lâmpada de cátodo oco (opcional), 3- espelhos elípticos, 4- atomizador, 5- fenda de entrada, 6- espelhos parabólicos, 7- prisma, 8- espelhos rebatíveis e fenda intermediária, 9- rede echelle e 10- detector CCD. Fonte - (WELZ et al., 2005)



A espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) é uma técnica bastante adequada na determinação de antimônio, visto que este elemento pode ser reduzido facilmente ao seu estado atômico livre sem a necessidade de qualquer unidade de atomização, podendo então ser medido por absorção atômica sem a necessidade de aquecimento. A Tabela 7 mostra alguns trabalhos utilizando HR-CS-AAS na determinação de antimônio em diversas matrizes de interesses ambientais.

**Tabela 7** – Trabalhos de determinação de antimônio utilizando espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS).

<b>Matriz</b>	<b>LD</b>	<b>Técnica</b>	<b>Referência</b>
<b>PET</b>	1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	GF AAS	(DE JESUS et al., 2016)
<b>CRM – Sedimentos</b>	0,02 $\mu\text{g g}^{-1}$	GF AAS	(ARAUJO et al., 2009)
<b>Material particulado</b>	0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	HG QT AAS	(FERREIRA et al., 2011)
<b>Ligas de estanho</b>	5,7 $\text{mg L}^{-1}$	FAAS	(DESSUY et al., 2013)
<b>Sedimento Marinho</b>	5,6 $\text{ng L}^{-1}$	HG AAS	(JUNIOR et al., 2015)
<b>Polimeros</b>	0,06 $\text{mg kg}^{-1}$	GF AAS	(DUARTE et al., 2013)
<b>Material particulado</b>	15 $\text{ng g}^{-1}$	SS AAS.	(WELZ et al., 2013)

### 3.3.3. Espectrometria de fluorescência atômica

Outra técnica que se destaca pela sua eficiência é a espectrometria de fluorescência atômica (AFS), que ganha um grande destaque quando acoplada a um sistema de geração de hidreto (HG). Nos últimos anos esta técnica vem sendo bastante utilizada devido ao seu baixo custo operacional, grande sensibilidade e ampla faixa de trabalho. Uma das principais vantagens desta técnica em comparação a AAS é o fato de apresentar maior sensibilidade devido ao seu baixo sinal de fundo. Os limites de detecção encontrados utilizando HG AFS, são comparáveis a valores encontrados quando usado ICP-MS (CHEN; BELZILE, 2010).

D'Ulivo (1995), propôs um método sensível para determinação ultra traço de antimônio por HG AFS, neste trabalho foi desenvolvido um sistema de atomização uma chama de argônio-hidrogênio miniaturizado. Um dos principais problemas encontrados, foi o espalhamento da radiação gerada a partir de gotículas de água formada durante a reação, que foi controlada com o sistema operando em condições

brandas. D'Ulivo obteve limites de detecção de 22 pg/cm<sup>3</sup>, e o sistema foi aplicado em amostras certificadas.

Em outro trabalho, foi proposto um sistema automatizado para determinação de antimônio, utilizando HG AFS integrado com um sistema de análise por injeção em fluxo com multiseringa (MSFIA), neste trabalho foi utilizado uma minicoluna catiônica a fim de reter espécies orgânicas. O método desenvolvido foi aplicado em águas naturais e apresentou baixos limites de detecção 0,03 µg L<sup>-1</sup> (PORTUGAL et al., 2015).

Ren e colaboradores (2015), fizeram um estudo de antimônio inorgânico dissolvido no mar do leste da China. Este estudo teve como motivação estimar o equilíbrio entre massa de água e antimônio e para tanto as amostras de água foram tamponadas em pH entorno de 4,0. A taxa de fluxo das amostras foi de 7,0 mL min<sup>-1</sup> durante a determinação e o método apresentou um limite de detecção de 0,011 nM. Foi observado que as amostras coletadas próximas ao estuário mostram maiores concentrações de antimônio.

Nos equipamentos de fluorescência a entrada das amostras geralmente está na forma líquida ou em suspensões, assim quando se trabalha com amostras sólidas deve-se utilizar estratégias como extração e/ou abertura da amostra. Trabalhando com material articulado atmosférico, ALSIOUFI et. al. (2016) desenvolveu um método para extração de antimônio inorgânico utilizando micro-ondas no lugar de um ultrassom num período de 6 min. Neste trabalho foi utilizado como solução extratora uma mistura de NH<sub>3</sub>OH e HCl, após a extração a determinação de antimônio foi realizada utilizando um HG AFS hifenado com um HPLC.

### 3.4 TÉCNICA DE GERAÇÃO DE HIDRETOS

O uso da técnica de geração de hidretos sugere que espécies químicas com características químicas e físicas diferentes, possam ser separadas por condições próprias. Assim, o analito capaz de gerar hidreto pode ser separado da matriz com uma maior eficiência. A geração do hidreto de uma espécie química está ligada diretamente ao seu estado de oxidação e para espécies com estado de oxidação

menores, a cinética é favorável. Porém, a quantidade de elementos que geram hidretos ainda é muito limitada, destacando-se o antimônio, arsênio, bismuto, germânio e índio, embora na literatura encontra-se a geração de hidreto de elementos não convencionais, como cobre (SILVA et al., 2014a) e zinco (SUN; SUO; LU, 2002).

Os primeiros trabalhos relatando a utilização da técnica de geração de hidreto são reportados no final da década de 60. Em um deles, o arsênio foi reduzido a quimicamente a arsina após a adição de zinco metálico em meio ácido. O vapor formado era carregado ao atomizador de chama por um fluxo contínuo de argônio e nitrogênio e hidrogênio gerado pela reação, foi observado que o ganho de sensibilidade era considerável, em relação a outras técnicas, devido à eficiência de transporte (HOLAK, 1969).

Entretanto, ainda haviam problemas no sinal analítico devido à chama, estes problemas foram solucionados quando foi utilizado um tubo de quartzo em formato de T sobre a chama, onde o hidreto era levado e decomposto, esta nova configuração diminuiu bastante a interferência vinda da radiação proporcionada pela chama. Foi observado também que o ganho de sensibilidade estava associado ao maior tempo de residência do vapor gerado no caminho ótico (CHU; BARRON; BAUMGARNER, 1972).

Após estas intervenções na geração de hidreto, foi possível inserção de outros elementos como alumínio, zinco e magnésio. Contudo as condições dos meios ácidos não promoviam a formação, o que limitava e muito a técnica para poucos elementos. Para tentar ampliar o uso da técnica para outros elementos, BRAMAN(1972) propôs a utilização de borohidreto de sódio como agente redutor, para determinação de antimônio e arsênio, nestas condições as espécies eram convertidas a seus devidos hidretos.

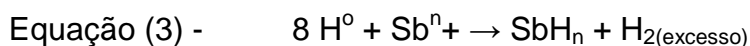
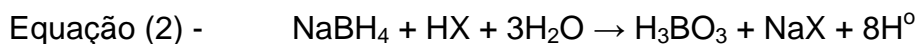
A partir do desenvolvimento da técnica, pode-se ampliar o número de espécies passíveis a formação de hidretos voláteis, aumentando a sua aplicabilidade. Devido as suas características, a geração de hidreto favorece grandes benefícios, como a separação da espécie da sua matriz, devido a formação do hidreto da espécie, evitando a interferência que possa ocorrer casualmente,

emprego de diversos métodos de leitura analítica e uma melhora significativa nos limites de detecção devido ao transporte mais efetivo ao atomizador (NAKAHARA, 1991).

Para o antimônio, o processo que leva a formação de hidreto, está ligado a vários fatores entre eles destacam-se:

- ✓ Concentração de borohidreto de sódio;
- ✓ Tipo e concentração dos ácidos utilizados;
- ✓ Tempo de reação, ligada diretamente a cinética de cada espécie;
- ✓ Agentes redutores;
- ✓ Eficiência de transporte do analito.

Os mecanismos de geração de hidreto de antimônio ainda não são muito esclarecidos. Uma das primeiras proposta foi a formação do hidreto, utilizando uma solução alcalina de borohidreto de sódio, onde o borohidreto de sódio em meio ácido reage formando ácido bórico e hidrogênio elementar, em seguida, o hidrogênio reage com o analito formando o seu respectivo hidreto. O hidrogênio elementar em excesso forma gás hidrogênio, sendo produto final da hidrólise ácida do borohidreto que pode ser descrito de modo geral pelas equações 2 e 3



Porém, em estudos mais recentes, o processo de geração de hidreto utilizando borohidreto de sódio está baseado na formação de um complexo intermediário (analito-borohidreto) onde há transferência gradual de átomos de hidrogênio. A nova evidência mostra que as espécies formadas durante a reação de hidrólise em meio ácido do borohidreto é o intermediário  $\text{L}_x\text{BH}_{4-x}^n$ . Esta nova proposta pode ser descrita de forma geral pela equação (4), que mostra a reação do



analito com o borohidreto, em seguida a formação do intermediário e a liberação de hidrogênio provocando a formação do hidreto de interesse.



**Tabela 8** – Determinação de antimônio utilizando geração de hidreto em diversos tipos de amostra.

<b>Técnica</b>	<b>Amostra</b>	<b>Referência</b>
<b>HG-AFS</b>	Água de mar	(REN et al., 2015)
<b>ICP OES</b>	Água potável	(DOS SANTOS, 2015)
<b>LC-HG-AFS</b>	Solo e sedimento	(YANG; HE, 2015)
<b>HG-APGD OES</b>	Água de nascente	(GREDA et al., 2015)
<b>HPLC-AFS</b>	Material particulado atmosférico	(ALSIOUFI, 2016)
<b>HG-AAS</b>	Sedimento	(SILVA et al., 2014b)
<b>HG-LIBS</b>	Água	(ÜNAL YEŞİLLER, 2013)
<b>HPLC-HG-AFS</b>	Vegetal	(OLIVARES et al., 2012)
<b>SS-AAS</b>	Sedimento	(KOZAK, 2012)
<b>HPLC/pre-reduction/HG-AFS</b>	Solo	(QUIROZ et al., 2011)
<b>GPCL detection</b>	Água / Solo	(YE et al., 2010)
<b>FA-HG-D-EAM</b>	Drogas leishmanicidas	(GALLIGNANI, 2009)
<b>HG-ICP OES</b>	Formulações farmacêuticas	(CABRAL et al., 2008)

### 3.5. ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO

Embora haja necessidade de analisar a concentração de elementos traço ou ultra traço, as informações sobre a mobilidade, biodisponibilidade e impacto desses em sistemas ambientais e biológicos são tão ou mais importantes que a análise total de elementos, sendo que estas informações não são obtidas através da determinação total destes elementos. O conhecimento das espécies químicas presentes em amostras leva a uma maior compreensão e entendimento dos processos químicos e bioquímicos envolvidos, resultando em informações mais completas e corretas sobre a toxicidade ou essencialidade de cada elemento, em que diferentes formas de um mesmo elemento podem estar relacionadas ao estado de oxidação, formas organolépticas, composição isotópica ou estado de complexação (Caruso, J. A. et. al., 2000).

Estas espécies em níveis traço apresentam um papel importante, alguns podem ser altamente tóxicos, outros considerados essenciais, mas podendo inverter o papel quando se apresentam altas concentrações ou apresentando diferentes toxicidades dependendo da variação do seu estado de oxidação, como por exemplo, íons de Sb (III) são considerados bem mais tóxicos do que os íons Sb (V) e as formas inorgânicas são as mais tóxicas entre todas (FILLELA, 2002). Íons de Cr(VI) são considerados mais tóxicos do que os íons Cr(III). O mercúrio por sua vez possui toxicidade tanto na forma inorgânica quanto na forma orgânica, porém estes apresentam diferentes padrões de toxicidade, sendo a forma orgânica mais tóxica (SKYLLBERG et al., 2006).

Assim, o estado de oxidação de um elemento pode afetar profundamente a sua toxicidade. A análise de diferentes formas químicas de um elemento particular é denominada de “especiação”, usada para indicar a distribuição de uma espécie em uma determinada matriz. As diferentes formas dos metais encontrados em sistemas aquáticos incluem o metal livre hidratado, na forma de complexos orgânicos e inorgânicos, metais ligados a partículas sólidas, coloidais ou microrganismos.

A análise de especiação de antimônio pode ser dividida em dois grupos: o primeiro classificado como especiação clássica e convencional, envolvendo a avaliação de antimônio inorgânico, pelos estados de oxidação trivalente e

pentavalente (“Front Matter”, 2005) e o segundo envolvendo os compostos organometálicos de antimônio, tendo como principais espécies químicas o ácido metil antimoniato  $[\text{MeSbO}(\text{OH})_2]$ , ácido dimetil antimoniato  $[\text{Me}_2\text{SbO}(\text{OH})]$ , metil antimônio  $[\text{MeSbH}_2]$  e dimetil antimônio  $[\text{Me}_2\text{SbH}]$  (MIRAVET et al., 2010). O antimônio também está associado à matéria orgânica em solos, com oxihidróxidos de ferro, manganês e alumínio e também minerais de argila. Este tipo de interação é estudado por diversos trabalhos devido às espécies estarem envolvidas em diferentes formas, tais como quelantes orgânicos e macromoléculas (ANTIMONY, 1990; VAN VLEEK, 2011).

Geralmente a determinação das espécies de antimônio envolve a determinação de Sb total e Sb (III) e a determinação das outras espécies é feita por diferença. Para isso a etapa de separação das espécies é de extrema importância.

Saracoglu e colaboradores (SARACOGLU et al., 2003) desenvolveram um procedimento para a especiação de antimônio em amostras de água da torneira e de águas residuais usando GFAAS. Nesse estudo, foi feita a retenção do Sb (III) complexado com pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC) numa coluna de resina. Em seguida, há a redução de Sb (V) para Sb (III) através da adição de iodeto numa solução ácida, permitindo a determinação do total de antimônio.

Em outro trabalho, foram utilizados nanotubos de carbono para especiação de antimônio em água empregando ET AAS, pelo qual as espécies trivalentes são complexadas utilizando pirrolidinaditiocarbamato de amônio, e retidas em minicolunas contendo nanotubos de carbono, a quantificação é feita após a eluição utilizando uma solução de amoníaco, em seguida determinou-se a concentração total após a redução do antimônio pentavalente (SARACOGLU et al., 2003).

Oliveira (2008) propôs uma metodologia para especiação de antimônio em água e soro sanguíneo por ETAAS após a extração no ponto nuvem. Neste trabalho o Sb (III) é extraído como ditiofosfato de dietilo (DDTP) em meio ácido, na presença de Triton X-114. Logo após, Sb total é determinado após a redução de Sb (V) para Sb (III) utilizando L-cisteína.

Métodos utilizando colunas cromatográficas também são utilizadas para a determinação de espécies orgânicas e inorgânicas. KRACHLER(2001) empregou

uma coluna de troca aniônica 14 Dionex AS para a separação de antimônio (V) de antimônio (III), utilizando como fase móvel uma solução 1,25 mM de EDTA a pH 4,7. Para a separação do cloreto de trimetil antimônio (V) ( $\text{TMSbCl}_2$ ) os autores utilizaram uma coluna de troca aniônica Ion-120, utilizando como fase móvel  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  2 mM e 1 mM a pH 8,5.

### 3.6 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

A quimiometria é a correlação da química com a estatística, para auxiliar na resolução de problemáticas que surgem no desenvolvimento de métodos analíticos. As técnicas quimiométricas vêm sendo utilizadas com bastante frequência nos últimos anos, proporcionando o aumento da frequência analítica e uma diminuição do tempo laboral. As principais vantagens do emprego da quimiometria é a redução do número total de experimentos realizados durante a otimização de um método, induzindo a um consumo menor de reagentes e reduzindo o trabalho de laboratório. Assim, se constitui uma metodologia mais viável do que nos processos utilizados nas otimizações univariadas (FERREIRA, 2015). Os benefícios dos métodos multivariados são proporcionar um estudo mais detalhado do processo, permitindo a avaliação da significância estatística dos mesmos e, além disso, permite a possibilidade de avaliação das interações entre os fatores (TARLEY et al., 2009).

Na otimização multivariada, dois passos são primordiais. Inicialmente, é realizada a identificação fatores que são significativos para o processo, enquanto que a segunda etapa relaciona a otimização da resposta na qual o objetivo é obter valores ótimos dos fatores para o sistema em estudo (FERREIRA, 2015). As variáveis ou fatores significativos existentes no método podem ser verificadas utilizando-se de métodos de rastreio como a aplicação de um planejamento fatorial completo. Porém, a otimização do método, com valores finais experimentais otimizados para os fatores podem ser obtidos levando-se em consideração a identificação do comportamento correto da resposta. Para isso, o emprego de metodologias de superfície de resposta são mais apropriadas (CALDAS et al., 2013).

### 3.6.1. Planejamento fatorial completo de dois níveis ( $2^k$ )

Uma das ferramentas quimiométricas mais utilizadas para otimização de métodos analíticos é o planejamento fatorial completo de dois níveis. Ela avalia as influências das variáveis do sistema em estudo, ou seja, os efeitos dos fatores e de suas interações sobre a resposta. A matriz desse planejamento é composta por uma matriz numérica  $2^k$  experimentos, sendo K, a quantidade de fatores avaliados (FERREIRA, 2015). Em geral, se utiliza o planejamento fatorial completo para avaliações preliminares, onde se deseja obter informações sobre determinados fatores, se estes apresentam influência sobre a resposta final ou não.

Um exemplo de planejamento fatorial completo está ilustrado na tabela 9, em que está expressa um sistema com 2 fatores, e os experimentos a serem executados relacionados as possíveis combinações, sendo os valores reais codificados em (+1) o nível superior e (-1) o nível inferior, para cada fator estudado.

**Tabela 9** - Exemplo de matriz de planejamento fatorial completo ( $2^2$ )

Experimentos	A	B
1	+	+
2	+	-
3	-	+
4	-	-

Além disso, com a inclusão de um estudo no ponto central onde se inclui um nível zero (0), que é a média dos valores superior e inferior do fator, pode-se obter outras informações como o reconhecimento de correlações não lineares no intervalo estudado e a presença de algum erro experimental que possa ter acontecido sem a necessidade de fazer réplicas de todos os experimentos do planejamento.

### **3.6.2. Metodologia de superfície de resposta**

Após obtenção dos fatores significativos para o processo a partir do planejamento fatorial completo, onde já tem a informação de quais são os fatores significativos do método avaliado, é utilizada uma metodologia de superfície de resposta para otimização, ou seja, encontrar valores em que os fatores estudados produzirão a melhor resposta (TEÓFILO, 2006).

A metodologia de superfícies de resposta associa um grupo de modelos matemáticos e estatísticos, para a análise de problemas em que a resposta está atrelada a diversas variáveis. As superfícies geradas pela técnica mostram graficamente a dependência da resposta com os fatores e o comportamento dos mesmos na região estudada (BOSQUE-SENDRA, 1995).

Este tipo de metodologia pode ser subdividida em duas partes, o deslocamento do domínio experimental e a modelagem, onde a repetição dessas etapas pode ser realizada diversas vezes, a fim de se atingir uma região ótima, que pode ser de máximo ou de mínimo. Existem diversos tipos metodologias de superfície de resposta, entre elas se destacam o planejamento fatorial de três níveis, planejamento composto central, planejamento Box-Behnken e a matriz de Doehlert, onde cada uma destas deve ser escolhida mediante a necessidade e limitações do método analítico (FERREIRA, 2015).

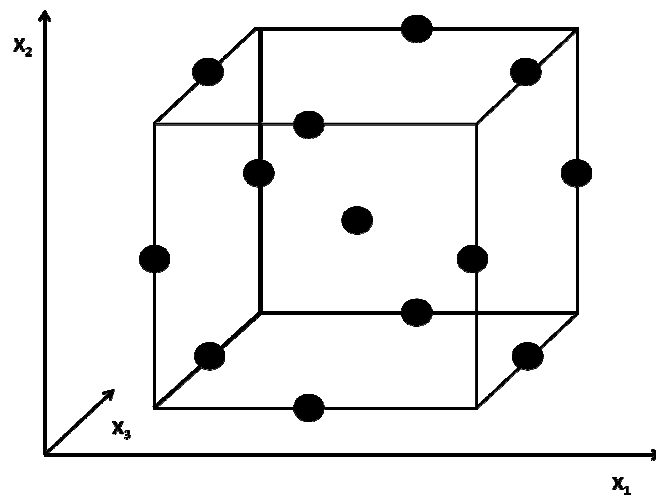
### **3.6.3. Planejamento Box-Behnken**

O planejamento Box-Behnken é uma ferramenta quimiométrica bastante utilizada em processos de otimização de métodos analíticos. Esta possibilita o desenvolvimento de modelos quadráticos, apresentando valores otimizados do sistema proposto. O planejamento Box-Behnken pode ser considerado uma das metodologias de superfície de resposta mais eficientes, como, por exemplo, quando comparado com o planejamento fatorial de três níveis, essa comparação pode ser estabelecida devido a eficiência de um planejamento experimental ser definida pela razão entre os números de coeficientes estimados pelo modelo e o número de experimentos (FERREIRA et al., 2007).

A matriz numérica do planejamento Box Behnken é construída a partir da função  $N = 2k(k - 1) + Co$ , onde  $N$  é o número total de experimentos,  $k$  é o número de fatores e  $Co$  é o número de pontos centrais. A tabela 10 mostra um exemplo de uma matriz, sendo (+1) o nível superior e (-1) o nível inferior para cada fator estudado e (0) é a média dos dois níveis de cada fator determinado como ponto central.

O planejamento Box-Behnken pode ser também representado por uma figura geométrica na forma de um cubo, em que as coordenadas da matriz são representadas pelos pontos médios nas arestas do cubo e o ponto central como mostra a Figura 3.

**Figura 3** - Representação gráfica do Planejamento Box-Behnken. Fonte - FERREIRA, 2015.



**Tabela 10-** Exemplo de matriz de planejamento Box-Behnken para 3 fatores

<b>Experimento</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
<b>1</b>	-	-	0
<b>2</b>	+	-	0
<b>3</b>	-	+	0
<b>4</b>	+	+	0
<b>5</b>	-	0	-
<b>6</b>	+	0	-
<b>7</b>	-	0	+
<b>8</b>	+	0	+
<b>9</b>	0	-	-
<b>10</b>	0	+	-
<b>11</b>	0	-	+
<b>12</b>	0	+	+
<b>13 (PC*)</b>	0	0	0
<b>14 (PC*)</b>	0	0	0
<b>15 (PC*)</b>	0	0	0

O modelo matemático obtido a partir dos ensaios experimentais é expressa como uma relação entre os termos lineares e os termos quadráticos da função. Este modelo quadrático pode ser representado da seguinte forma equação (6) para um método com três variáveis.

$$\text{Equação (6) - } R = a + bA + cB + dC + eA^2 + fB^2 + gC^2 + hAB + iAC + jBC$$



Onde está mostra os termos lineares e quadráticos, bem como os termos que correlacionam a interação entre variáveis. Sendo  $R$  a resposta final do sistema;  $a$  um termo independente;  $b$ ,  $c$  e  $d$ , coeficientes de termos lineares,  $e$ ,  $f$ ,  $g$  os coeficientes de termos quadráticos relativos a cada um dos fatores;  $h$ ,  $i$ ,  $j$  são os coeficientes correspondentes às interações;  $A$ ,  $B$  e  $C$  representam os fatores.

#### 3.6.4. Planejamento Doehlert

O planejamento Doehlert tem sido muito utilizado no processo de otimização de métodos analíticos, ele é baseado na distribuição uniforme de pontos onde cada um tem espaçamentos iguais formando um círculo, esfera ou hipersferas concêntricas que varia a depender de quantos fatores se utiliza, a mais simples é a forma hexagonal para o caso de dois fatores (FERREIRA, 2015). O planejamento Doehlert apresenta particularidades em relação as outras MSR, permitindo estimar parâmetros para o modelo quadrático e a construção de planejamentos sequenciais devido à grande possibilidade de mobilidade do seu domínio experimental, tendo em relação as outras metodologias um número menor de experimentos. A tabela 11 representa o planejamento mais simples para dois fatores.

**Tabela 11** – Matriz do planejamento Doehlert para dois fatores.

Experimento	A	B
1	0	0
2	0	+1
3	+0,866	+0,5
4	0	-1
5	-0,866	-0,5
6	-0,866	+0,5
7	+0,866	-0,5

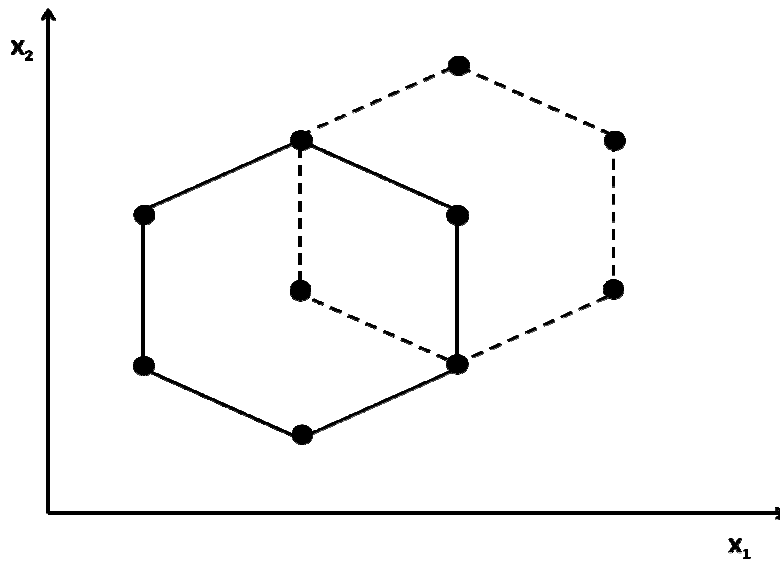
O domínio experimental é avaliado para N experimentos em que o número de fatores K está dentro do intervalo  $2 < k < 10$ , assim para o planejamento tem-se  $k^2 + k + 1$  experimentos e correspondendo um mínimo de pelo menos três níveis para cada fator, assim para um planejamento de duas variáveis a matriz apresenta uma dimensão de (3,5) como está representada na tabela 11.

Em relação a outros planejamentos, a matriz de Doehlert apresenta, por exemplo, um número de experimentos iguais ao do Box-Behnken, a diferença é o número mínimo de fatores 2 e 3, respectivamente. Já em relação ao composto central ele apresenta uma quantidade de experimentos menor demonstrando sua maior eficiência. Comparando a eficiência da matriz de Doehlert, ela apresenta o mesmo valor em comparação ao Box-Behnken para um experimento com três fatores,  $\sigma = 0,86$ , enquanto para o planejamento composto central,  $\sigma = 0,67$  (BOSQUE-SENDRA, J. M., 1995).

Mesmo o planejamento Doehlert e o planejamento Box-Behnken mostrando a mesma eficiência, o Doehlert permite trabalhar com um mínimo de duas variáveis e as mesmas serem avaliadas em diferentes níveis. Esta característica permite a escolha livre dos fatores, permitindo um estudo mais detalhado do domínio experimental. Esta característica é relevante quando alguns fatores apresentam limitações instrumentais ou alto custo, de forma que, seu estudo com pequeno número de níveis seja necessário (ARAUJO, 1996).

Assim, o planejamento Doehlert torna-se bastante adequado e vantajoso para otimização de experimentos por ser facilmente aplicado as variáveis experimentais e a flexibilidade de poucos experimentos, permitindo a construção de um planejamento na região em que se espera resposta máxima e também a quantidade de níveis correspondentes a cada um dos fatores pode ser utilizada a obter mais informações sobre os fatores mais significantes ou problemáticos. A figura 4 mostra uma representação geométrica das coordenadas de um planejamento Doehlert.

**Figura 4**– Representação do planejamento de matriz Doehlert



### 3.7. MÉTODOS DE ANÁLISE EM FLUXO

Nas últimas décadas, vêm se desenvolvendo novas metodologias analíticas a fim de realizar um controle de um número grande de parâmetros, onde se garante resultados confiáveis, seguros e econômicos. Com isso, a automação dos métodos analíticos permite diversas vantagens, como o aumento da qualidade da análise e a flexibilidade dos sistemas, o que proporciona uma melhor seletividade e sensibilidade nos métodos analíticos, sem grandes alterações dos instrumentos. Também torna-se possível o armazenamento dos resultados experimentais obtidos para que possam ser processados e utilizados a qualquer momento, além de reduzir o tempo de análise (CERDÀ; AMALIA, 2009).

O desenvolvimento de técnicas para análise em fluxo permitiu a automatização completa ou parcial dos diversos processos analíticos. Um método automatizado deve ser capaz de realizar todas as etapas do processo analítico, sem a intervenção do analista, esse mesmo tomar decisões e mudar as condições de trabalho, se os resultados assim o exigirem (CERDÀ, 2014). Em processos parcialmente automatizados, o processo se compromete a um ou mais dos recursos do método, mas não todos. Numa automação completa se inclui todas as fases de um processo analítico, como por exemplo, amostragem, separação do analito, diluição ou pré-concentração das espécies de interesse, medição,

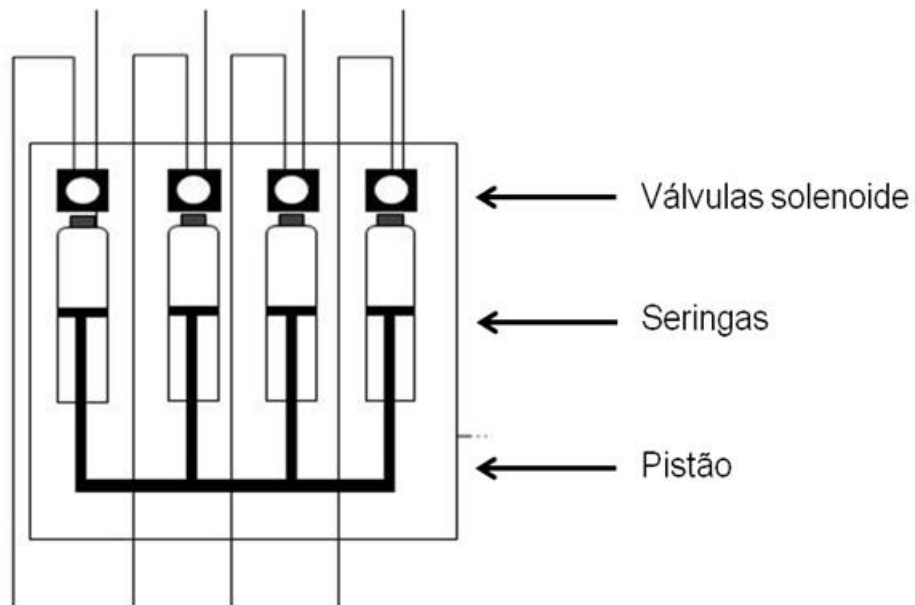
tratamento de dados, tomada de decisões e mudanças de estratégia para a medição (PORTUGAL et al., 2015).

### **3.7.1 Técnicas de análise em fluxo com injeção multiseringas - MSFIA**

A técnica de análise em fluxo utilizando multiseringas (MSFIA), foi descrita inicialmente em 1999. Esta técnica se apresenta como uma excelente ferramenta na resolução de problemas de fluxo onde a uma manutenção automática, trazendo várias vantagens em comparação com outras técnicas, como um fluxo de alta frequência, grande robustez e versatilidade (ALBERTUS et al., 1999).

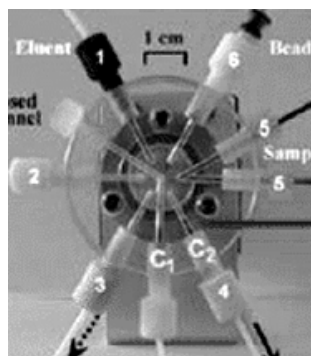
O sistema MSFIA (figura 5) pode ser compreendido da seguinte forma, geralmente possui um módulo com quatro seringas que são movidas simultaneamente por um êmbolo que se desloca verticalmente. Em cada uma das seringas apresenta uma válvula solenoide na sua extremidade superior com duas vias, permitindo uma grande variedade de modos de injeção predeterminados. O sistema também apresenta em sua constituição, tubos de politetrafluoroetileno (PTFE) o que garante a utilização de reagentes orgânicos, além de possuir a possibilidade de fazer diversas conexões utilizando conectores de polimetilmetacrilato (PMMA) que podem ser construídos com diversas vias. Além disso, devido às válvulas solenoides, os reagentes que não foram utilizados são devolvidos aos respectivos recipientes de origem sem alterar nenhum passo do procedimento, diminuindo assim a produção de resíduos em relação a outros métodos (CERDÀ; AMALIA, 2009).

**Figura 5**– Representação do modulo Multiseringa para análise de injeção em fluxo MSFIA.



A utilização do MSFIA com sistemas integrados, proporciona uma maior versatilidade, como é o caso do acoplamento desta com outra metodologia conhecida, a Lab-on-Valve (LOV), este método está baseado num sistema de canais integrados para uma célula de fluxo montado numa válvula que apresenta diversas posições. Suas principais características são: grande versatilidade com outras configurações de análise em fluxo, robustez e baixo custo (RUZICKA, 2000). A Figura 6 mostra a representação de um sistema Lab-on-Valve.

**Figura 6** – Sistema Lab-on-Valve (LOV). Fonte (CERDÀ; AMALIA, 2009)



#### **4. OTIMIZAÇÃO DA ESTRATÉGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE Sb TOTAL EM TECIDOS DE MÚSCULO DE PEIXES UTILIZANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETO.**

A determinação de metais em amostras alimentícia apresenta grande importância devido à identificação de fontes de minerais. Isso permite analisar a presença de elementos essenciais e não essenciais, sendo crescente, nos últimos anos, o interesse na determinação desses elementos. Os não essenciais trazem uma maior preocupação por conta da exposição e distúrbios em sistemas orgânicos, levando-se a situações especiais de doenças (HAESE et al., 1995).

As fontes de contaminação dos alimentos por estes metais, podem ser devido a armazenagem, transporte, estocagem ou poluição do solo devido à irrigação, pesticidas e fertilizantes (TOKALIOĞLU, 2012). Alimentos e derivados de plantas, que apresentam área folhosa relativamente grande, a exemplo do espinafre, repolho, alface e outros com alto poder de absorção, podem conter níveis elevados de metais quando cultivados perto de fontes contaminadas (OYMAK et al., 2009).

Desta forma, a determinação e o controle do teor de antimônio em alimentos se faz necessária. No entanto, a maior dificuldade encontrada durante a determinação de antimônio em amostras de alimentos é seu caráter volátil, tornando-se mais crítico para análise de especiação. Com isso, os processos de preparação da amostra para determinação de antimônio requerem maior atenção (WELNA; SZYMCZYCHA-MADEJA; POHL, 2014).

### **4.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

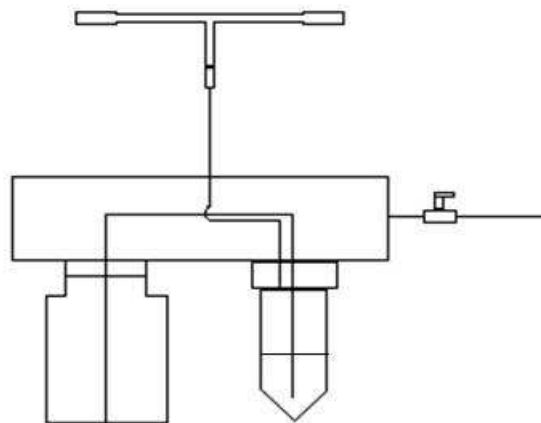
#### **4.1.1. Instrumentação**

Para a determinação de antimônio em amostras de tecido de músculo de peixe, foi utilizado durante todas as medidas um espectrômetro de absorção atômica com fonte contínua de alta resolução modelo ContrAA 700 (Analytik Jena AG, Jena, Alemanha). Como fonte de radiação foi utilizada uma lâmpada de arco curto de xenônio com alta intensidade de radiação operando no modo hot-spot, com intensidade de corrente de 13 A. O equipamento possui um monocromador duplo de

alta resolução e um dispositivo de carga acoplada (CCD) como detector. Todas as medidas foram realizadas usando a linha principal do antimônio, a qual possui comprimento de onda de 217,5815 nm, e a concentração do teor de antimônio foi determinada através da análise da altura do pico de absorção utilizando um tempo de leitura de 15s. A composição da chama para o aquecimento do tubo de quartzo era constituído por acetileno e ar, com um fluxo de 80 L h<sup>-1</sup> e 400 L h<sup>-1</sup>, respectivamente. Como gás de purga para o transporte do hidreto de antimônio utilizou-se argônio com alto grau de pureza de 99,996% (White Martins, São Paulo, Brasil).

Durante todo o trabalho, um sistema de geração de hidreto modelo HS50 Analytik Jena (GLE, Berlim, Alemanha), como mostra a figura 7, foi acoplado ao ContrAA 700 para geração e transporte do hidreto para o atomizador. Ele foi operado manualmente, sendo que o vapor gerado era transportado pneumáticamente até a célula de reação de quartzo que era aquecida sobre a chama.

**Figura 7** - Desenho esquemático do sistema de geração de vapor frio de mercúrio utilizando módulo HS50 adaptado e acoplado ao HR-CS AAS. Fonte: SILVA 2012



#### 4.1.2. Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados ao longo do trabalho possuíam alto grau analítico. Os padrões de antimônio foram preparados a partir de sucessivas diluições

de um padrão de 1000 mg L<sup>-1</sup> (MERCK, Darmstadt, Alemanha) em ácido nítrico 0,05%. Para preparação das soluções padrão, utilizou-se água ultrapura obtida a partir de um sistema de purificação de água modelo Milli-Q Plus (Bedford, Massachusetts, EUA), com resistividade específica de 18,2 MΩ cm<sup>-1</sup>. As soluções utilizadas para as curvas de calibração foram preparadas diariamente numa faixa de 0,0 a 10,0 mg.L<sup>-1</sup>.

A solução de borohidreto de sódio (MERCK) 6% (m/v) foi preparada diariamente dissolvendo o sólido em uma solução de hidróxido de sódio 0,05% (Merck). Após o preparo a solução era filtrada usando uma membrana de porosidade 0,45 µm. As soluções de ácido nítrico foram preparadas a partir da diluição do ácido concentrado 65% (MERCK, Alemanha) em água ultrapura.

#### **4.1.3 Preparo das amostras de tecido de músculo de peixe.**

Para o procedimento de preparo de amostra de tecido de músculo de peixe (Arraia - *Rajiformes lasmobranquiomorpha*), foi empregado a decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas modelo Start D (Milestone, Sorisole, Itália). Para o preparo, foi pesado 0,2 g de amostra e colocados nos tubos de decomposição juntamente com uma mistura constituída de 2,0 mL de ácido nítrico concentrado, 1,0 mL de peróxido de hidrogênio e 5,0 mL de água ultrapura. O programa de aquecimento do micro-ondas esta apresentado na Tabela 12, em que são apresentadas as sete etapas. Na última etapa do procedimento de decomposição o sistema foi resfriado utilizando ventilação forçada durante 30 min. Após a etapa de decomposição, as amostras foram transferidas para recipientes plásticos e foi adicionada água ultrapura para que as amostras atingissem um volume final de 10 mL. O procedimento de digestão foi aplicado em triplicata em todas as amostras de tecido de músculo de peixe. As amostras de peixe foram coletadas em duas regiões da Baía de Todos os Santos.



**Tabela 12** – Programa de aquecimento para digestão por micro-ondas das amostras de tecido de músculo de peixe.

Etapa	Tempo (min)	Potência máxima(W)	Temperatura (°C)
1	5	800	80
2	4	800	80
3	4	1000	120
4	5	100	120
5	5	1000	160
6	10	1000	160
7	-	-	Resfriamento

#### 4.2. OTIMIZAÇÃO E RESULTADOS PARA DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS DE TECIDO DE MUSCULO DE PEIXE.

A otimização das condições experimentais para geração do hidreto de antimônio consistiu na realização de diversos ensaios para que se obtivesse uma condição ótima para o sistema proposto. Para isso, realizou-se inicialmente um planejamento fatorial completo  $2^3$ , para avaliar os efeitos dos fatores, se os mesmos possuíam significância durante o processo e se havia algum tipo de interação entre eles. Os fatores envolvidos nesta etapa foram: concentração do ácido nítrico, concentração do borohidreto de sódio e a taxa de fluxo do argônio. Foi também realizado experimentos no ponto central para avaliar e determinar possíveis erros experimentais durante o processo de otimização. A tabela 13 mostra os domínios experimentais utilizados dos fatores, apresentando seus valores reais e codificados. Como resposta analítica foi utilizado o sinal de altura de pico de absorção do antimônio. Durante todo processo de otimização do método, 10 mL de

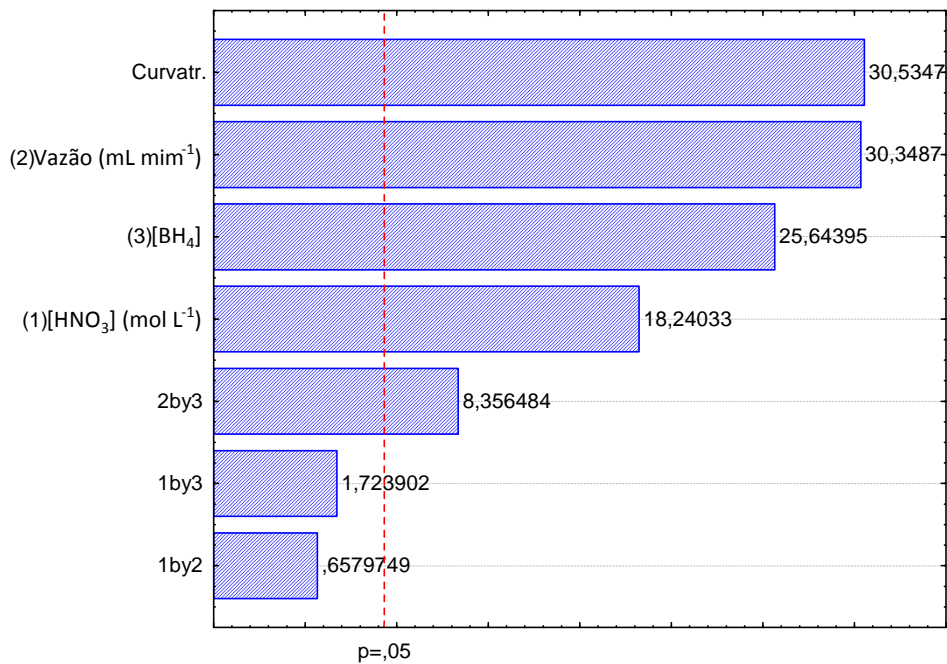
solução padrão de antimônio de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  foi utilizado em cada experimento. Em seguida, no momento da leitura de cada experimento foi injetado 2,0 mL da solução de borohidreto de sódio no frasco reacional.

A partir das respostas obtidas através da matriz do planejamento fatorial completo de dois níveis foi possível gerar um gráfico de Pareto (Figura 8) a qual foi possível analisar a significância dos fatores investigados, o efeito de cada uma delas e se havia interação significativa entre eles.

**Tabela 13**– Planejamento fatorial completo  $2^3$  para determinação de antimônio em tecido de músculo de peixe.

Experimento	[HNO <sub>3</sub> ] (mol L <sup>-1</sup> )	Fluxo de argônio (mL min <sup>-1</sup> )	[BH <sub>4</sub> ](%)	ABS
1	-1 (0,5)	-1 (24)	-1 (0,5)	0,2142
2	1 (2,5)	-1 (24)	-1 (0,5)	0,2634
3	-1 (0,5)	1 (32)	-1 (0,5)	0,2915
4	1 (2,5)	1 (32)	-1 (0,5)	0,4116
5	-1 (0,5)	-1 (24)	1 (2,5)	0,2619
6	1 (2,5)	-1 (24)	1 (2,5)	0,3930
7	-1 (0,5)	1 (32)	1 (2,5)	0,4890
8	1 (2,5)	1 (32)	1 (2,5)	0,5627
9 (CP)	0 (1,5)	0 (29)	0 (1,5)	0,5062
10 (CP)	0 (1,5)	0 (29)	0 (1,5)	0,5070
11 (CP)	0 (1,5)	0 (29)	0 (1,5)	0,5191

**Figura 8** – Gráfico de Pareto do planejamento fatorial completo para determinação de antimônio em amostras de tecido de músculo de peixe



A partir do gráfico de Pareto, pode-se observar que todos os fatores escolhidos bem como a interação do vazão de argônio e a concentração de borohidreto foram estatisticamente significativos e positivos. Foram calculados os efeitos dos fatores e de suas interações (FERREIRA, 2015), expressas a um nível de confiança de 95% e todos apresentaram efeito positivo, indicando assim, que a resposta analítica aumenta uma vez que os fatores aumentam de nível dentro do domínio experimental de trabalho estudado. Observando o gráfico de Pareto pode-se verificar que o fator que apresentou a maior significância foi o fluxo de argônio, este fator apresenta um efeito positivo (0,156), indicando que com um fluxo maior de argônio o transporte do vapor gerado acontece de forma mais rápida para o atomizador, e como a resposta analítica é a altura do pico de absorção, o aumento do número átomos de antimônio no caminho óptico irá resultar numa maior quantidade de radiação absorvida, ou seja, uma maior resposta.

O efeito da concentração do borohidreto de sódio também foi positivo (0,131), indicando que para maiores valores de concentração a resposta analítica também será maior, isso ocorre pois com um maior aumento da concentração do borohidreto

uma quantidade de matéria maior é injetada no tubo reacional onde ocorre a formação do hidreto, favorecendo assim a reação de formação do hidreto.

A concentração do ácido nítrico também apresentou valor de efeito positivo (0,094) para o domínio experimental estudado, assinalando utilizar valores maiores de concentração de ácido, o que contradiz a literatura, pois, na maioria dos casos, para concentrações altas de ácido a geração de gás hidrogênio é maior, o que pode provocar uma diluição do vapor químico gerado, mas neste caso a relação do ácido com o borohidreto de sódio pode responder esta questão devido à indicação de maiores valores de concentração de borohidreto.

Pode-se observar também que a curvatura também se mostrou significativa com efeito negativo (-0,150). O teste de curvatura é calculado a partir da diferença da média dos valores dos experimentos do planejamento pela média dos experimentos do ponto central. Indicando assim que a região do ponto central não é a região de máximo.

Considerando os resultados obtidos a partir do planejamento fatorial completo, que mostrou que todos os fatores escolhidos apresentavam significância no domínio experimental estudado, foi aplicado uma metodologia de superfície de resposta a fim de se obter as condições ótimas para geração de vapor químico de hidreto e todos os três fatores foram incluídos. O domínio experimental foi estabelecido após avaliação do gráfico de Pareto. A tabela 14 mostra a matriz com os valores codificados e os valores reais dos fatores utilizados no planejamento Box-Behnken e as respostas encontradas durante os experimentos.

**Tabela 14** - Matriz do planejamento Box Behnken para otimização do procedimento de geração de hidreto na determinação de antimônio em amostras de tecido de músculo peixe.

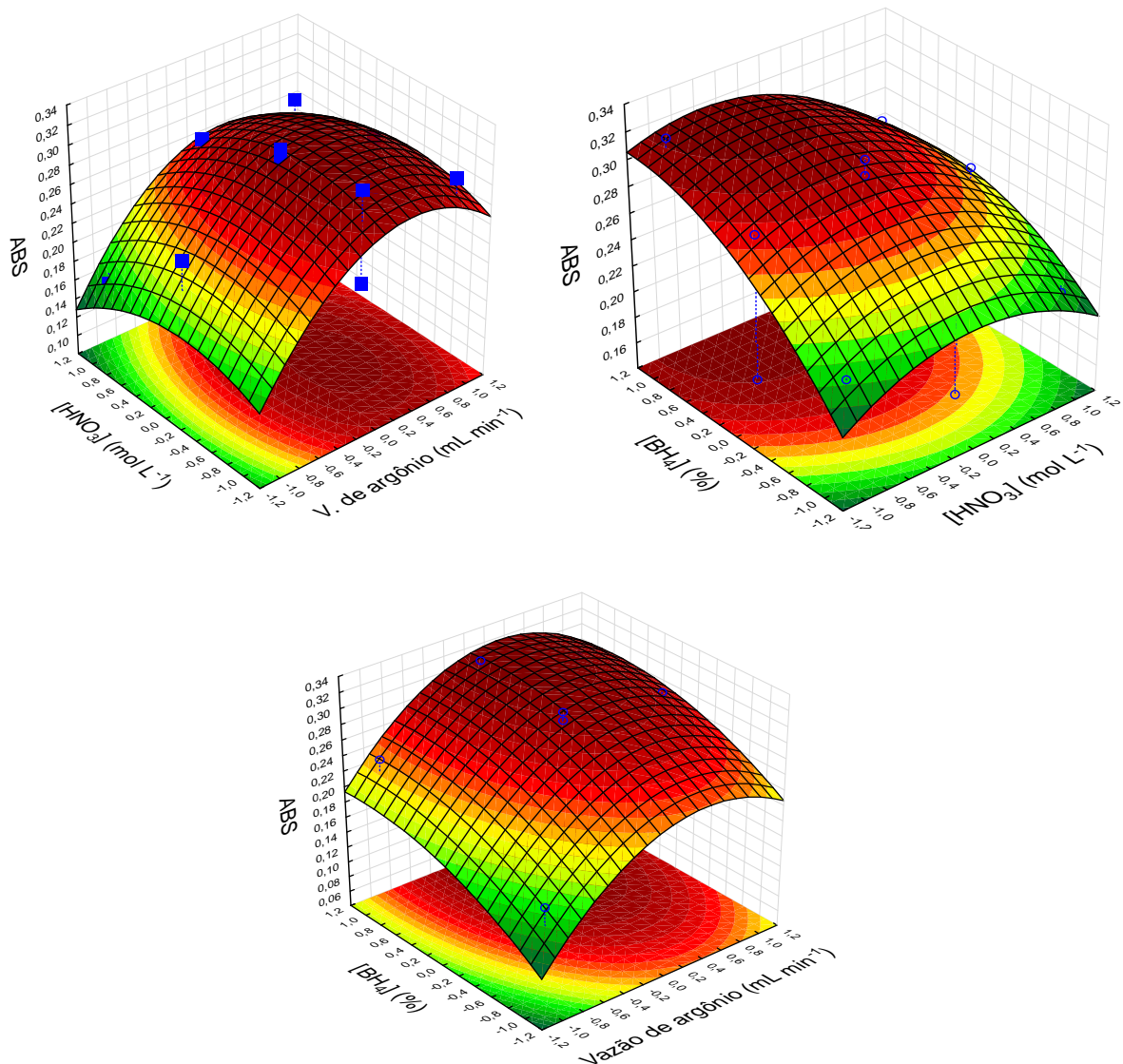
Experimento	[HNO <sub>3</sub> ] (mol L <sup>-1</sup> )	Vazão de argônio (mL min <sup>-1</sup> )	[BH <sub>4</sub> ] (%)	ABS
1	-1 (0,6)	-1 (12,0)	0 (4,5)	0,1775
2	1 (1,4)	-1 (12,0)	0 (4,5)	0,1578
3	-1 (0,6)	1 (34,0)	0 (4,5)	0,2852
4	1 (1,4)	1 (34,0)	0 (4,5)	0,2691
5	-1 (0,6)	0 (22,0)	-1 (3)	0,2224
6	1 (1,4)	0 (22,0)	-1 (3)	0,2150
7	-1 (0,6)	0 (22,0)	1 (6)	0,3165
8	0 (1,0)	0 (22,0)	1 (6)	0,2675
9	0 (1,0)	-1 (12,0)	-1 (3)	0,1733
10	0 (1,0)	1 (34,0)	-1 (3)	0,2224
11	0 (1,0)	-1 (12,0)	1 (6)	0,2369
12	0 (1,0)	1 (34,0)	1 (6)	0,2762
13	0 (1,0)	0 (22,0)	0 (4,5)	0,2905
14	0 (1,0)	0 (22,0)	0 (4,5)	0,3072
15	0 (1,0)	0 (22,0)	0 (4,5)	0,2959

Os resultados obtidos através do planejamento Box-Behnken foram avaliados e tratados empregando o programa estatístico Statistica 7.0 e um modelo quadrático

foi gerado sem falta de ajuste para se obter as condições de máximo para geração de hidreto de antimônio no domínio experimental estudado. Com os dados obtidos na realização dos experimentos que compõem esta matriz foi possível gerar as superfícies de resposta na Figura 9. Estas superfícies de resposta podem ser descritas pela equação (7) a qual ilustra a relação entre os fatores escolhidos: concentração do ácido nítrico ( $[\text{HNO}_3]$ ), concentração do borohidreto de sódio  $[\text{BH}_4]$  e a taxa de vazão do argônio (FA).

**Equação (7)**  $-\text{ABS} = -0,498 + 0,340[\text{HNO}_3] - 0,148[\text{HNO}_3]^2 + 0,252(\text{FA}) - 0,00046(\text{FA})^2 + 0,0118[\text{BH}_4] - 0,0084[\text{BH}_4]^2 + 0,00026[\text{HNO}_3](\text{FA}) - 0,0173[\text{HNO}_3](\text{FA}) - 0,00017(\text{FA})[\text{BH}_4]$

**Figura 9** – Superfícies de respostas obtidas pela da matriz Box-Behnken.



As condições experimentais encontradas foram: concentração de ácido nítrico de  $0,82 \text{ mol L}^{-1}$ , a vazão de argônio de  $26,50 \text{ mL min}^{-1}$  e a concentração de sódio borohidreto de  $5,9\% (\text{m v}^{-1})$ . Assim, as condições de trabalho estabelecidas para o procedimento geral estão dispostas na tabela 15.

**Tabela 15** – Valores das condições experimentais ótimas para determinação de antimônio em amostras de tecido de músculo de peixe.

	Mínimo	Crítico	Máximo
[HNO <sub>3</sub> ] ( $\text{mol L}^{-1}$ )	0,6	0,80	1,4
Fluxo de argônio ( $\text{mL min}^{-1}$ )	12,0	26,0	34,0
[BH <sub>4</sub> ]	3,0	6,0	6,0

#### 4.4. FIGURAS DE MÉRITO

O método proposto para determinação de antimônio em amostras de tecido de músculo de peixe utilizando espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos descrita foi validado segundo as normas estabelecidas pela IUPAC (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002). Os valores de absorvância de antimônio utilizando o sistema proposto e nas condições experimentais otimizadas varia segundo a equação da curva de calibração aquosa (Equação 8), esses valores foram expressos com um intervalo de confiança de 95%. Além disto, foi utilizada a técnica de adição de analito a fim de avaliar qualquer interferência no sinal analítico durante as medidas. A inclinação da curva com adição de analito expressa na equação 9 mostra que não houve diferença significativa, para um nível de 95% de confiança, entre essa curva e a curva de calibração aquosa, mostrando que a quantificação do método para determinação de antimônio na matriz de tecido de músculo de peixe pode ser realizada pela técnica de calibração externa.

**Equação (8)** -ABS =  $(0,0550 \pm 0,0041)[\text{Sb } \mu\text{g L}^{-1}] + (0,0179 \pm 0,0025)$ ,  $r^2 = 0,9980$

**Equação (9)** -ABS =  $(0,0575 \pm 0,0054) [\text{Sb } \mu\text{g L}^{-1}] + (0,2240 \pm 0,0332)$ ,  $r^2 = 0,9950$

Com estes resultados, aplicando as condições experimentais ótimas, foi possível calcular os limites de detecção ( $3\sigma/s$ ) e quantificação ( $10\sigma/s$ ) que foram de 0,8 e 2,6 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente. A precisão que mede o grau de variação entre as respostas do método, foi de 4,3%, expressos por desvio padrão relativo (RSD%), e foi obtida através de cinco determinações repetitivas de um padrão de 5 µg mL<sup>-1</sup>.

O grau de exatidão do método proposto foi avaliado através da quantificação de antimônio em um material de referência certificado (CRM) de tecido de ostra 1566b disponibilizado pelo National Institute of Standards and Technology (NIST). Os valores de concentração de antimônio encontrados pelo método proposto foram estaticamente concordantes a um nível de 95% de confiança, com os valores certificados do CRM ( $0,013 \pm 0,005 \text{ mg g}^{-1}$ ) e ( $0,011 \pm 0,002 \text{ mg g}^{-1}$ ), respectivamente. Estes resultados corroboram a exatidão do método.

#### **4.5. APLICAÇÃO DO MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM TECIDO DE MÚSCULO DE PEIXE**

O método proposto foi aplicado para a determinação de antimônio total, em sete amostras de tecido de músculo de peixe. Os resultados obtidos podem ser observados na tabela 16. Nestas amostras o teor de antimônio encontrado variou de 62,3 a 246,9 ng g<sup>-1</sup>, sendo que para duas amostras a concentração de antimônio foi menor que o limite de quantificação do método. Os valores encontrados nas amostras não apresentam risco à saúde, considerando a ingestão de 150 g de peixe semanal (JOOSTE et al., 2014).



**Tabela 16** – Determinação de antimônio em amostras de tecido de músculo de peixe coletadas na Baía de todos os Santos.

<b>Amostra</b>	<b>Local de coleta</b>	<b>[Sb total] (ng g<sup>-1</sup>)</b>
M1	<i>Madre de Deus</i>	62,3 ± 1,8
M2	<i>Madre de Deus</i>	369,5 ± 9,6
M3	<i>Madre de Deus</i>	158,1 ± 3,6
M4	<i>Madre de Deus</i>	< LQ
M14	<i>Bom Jesus dos Pobres</i>	246,9 ± 13,0
M15	<i>Bom Jesus dos Pobres</i>	< LQ
M16	<i>Bom Jesus dos Pobres</i>	134,1 ± 10,0

## **5. ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO INORGÂNICO EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS DO ESTUÁRIO SÃO PAULO, BAHIA, BRASIL.**

Análise de especiação de antimônio em amostras sólidas caracteriza uma tarefa árdua, pois envolve processos adequados de extração das espécies de interesse com recuperações quantitativas, evitando a interconversão das espécies (JUNG; THORNTON; CHON, 2002). A técnica analítica mais comumente utilizada na especiação de antimônio é a cromatografia líquida (QUIROZ et al., 2011). Assim, a amostragem de suspensão juntamente com uma etapa de extração de analitos mostra-se uma excelente ferramenta para o preparo de amostras quando comparada com outras como digestão, além de reduzir o riscos de perdas de elementos, diminuir possíveis contaminações (JUNIOR et al., 2015).

Neste estudo foi investigado a extração de espécies de antimônio em amostras de sedimento, utilizando metodologias de otimização multivariada. Para isso o método desenvolvido foi aplicado em sete amostras de sedimento marinho coletadas no Estuário São Paulo, localizado na Baía de Todos os Santos (Bahia, Brasil).

### **5.1 INSTRUMENTAÇÃO**

Durante a realização de todo este trabalho, todas as medidas experimentais foram realizadas utilizando o mesmo equipamento que foi empregado no capítulo anterior descrito na seção 3.

Foi utilizado um Banho Ultrassônico Modelo USC -1850 UNIQUE (Indaiatuba, São Paulo, Brasil) durante todos os experimentos na etapa de preparo de amostra.

### **5.2 REAGENTES E SOLUÇÕES**

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas com água deionizada por um sistema Milli-Q (Millipore, Berford,

MA, USA, com resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm). As soluções padrão de 1000 mg L<sup>-1</sup> de Sb (III) e Sb (V) foram preparadas por dissolução adequada de SbCl<sub>3</sub> e SbCl<sub>5</sub> (Merck), respectivamente, em 20 % (v/v) de HCl (Merck) e diluídas com água deionizada. Após isso, a solução foi mantida a uma temperatura de 4°C. Todas as soluções utilizadas nas curvas de calibração e otimização do método eram preparadas diariamente.

As soluções aquosas de borohidreto de sódio (m/v) foram preparadas diariamente dissolvendo NaBH<sub>4</sub> em uma solução de 0,5 % (m/v) NaOH e filtrada com membrana de 0,45  $\mu$ m. A solução para pré-redução contendo iodeto de potássio e ácido ascórbico, 10 e 2,0 % (m/v), respectivamente, foram preparadas diariamente em água deionizada. Além disso, foi preparada uma solução de citrato de sódio 5% (m/v) utilizada como agente mascarante para o Sb (V) (JUNIOR et al., 2015).

### **5.3. COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS**

#### **5.3.1 Coleta das amostras**

Todas as amostras foram coletadas no Estuário São Paulo, localizado na Baía de todos os Santos, entre as cidades de São Francisco do Conde e Candeias, estas duas regiões apresentam grande atividade industrial devido à exploração de petróleo. A coleta das amostras foi feita utilizando um amostrador manual de aço inoxidável como mostra a Figura 10. As amostras de sedimento superficiais foram recolhidas a uma profundidade que variaram de 0 a 20 cm. Em seguida, foram peneiradas por uma peneira de 4  $\mu$ m para que fosse possível remover partes indesejáveis como pedra e material vegetal. As amostras foram homogeneizadas e submetidas ao processo de liofilização para retirada da umidade durante 72 horas.

**Figura 10** – Amostrador utilizado para coleta de sedimento



### **5.3.1. Preparo das amostras para determinação de antimônio inorgânico**

#### **Determinação de antimônio total:**

Foram pesadas 0,2 g de amostra de sedimento e transferidas para um balão volumétrico de 25,0 mL. Em seguida, foram adicionados 5,0 mL de uma solução de ácido clorídrico 7,2 mol L<sup>-1</sup> e 1,0 mL da solução redutora (KI/ácido ascórbico). Depois disso, a mistura foi colocada em um banho ultrassônico durante 20 min a temperatura de 70 °C. Esta mistura foi arrefecida e o volume do balão volumétrico foi completado utilizando 12 mL de água deionizada e 7,0 mL de solução de ácido clorídrico 2 mol L<sup>-1</sup> para se obter uma concentração final de 2 mol L<sup>-1</sup>, que foi a condição ótima de leitura. Após todo preparo, foram recolhidas alíquotas de 10 mL da suspensão preparada e analisadas para a determinação de Sb total.

#### **Determinação de antimônio (III):**

O procedimento de determinação de Sb (III) ocorreu de forma semelhante ao de determinação de Sb total, diferindo na adição de 1,0 mL de solução de citrato de sódio, agente mascarante de Sb (V), ao invés da solução redutora de KI/ácido

ascórbico. No final, alíquotas de 10 mL da suspensão de amostra foram recolhidas e analisadas para a determinação de Sb (III).

As curvas de calibração para quantificação do método foram preparadas diariamente, da mesma forma que as amostras, com a adição de 1,0 mL da solução de pré-redução para Sb (III) e 1,0 mL de ácido cítrico para Sb (V). A concentração de Sb (V) foi determinada pela diferença do Sb total e Sb (III).

#### **5.4. OTIMIZAÇÃO E RESULTADOS PARA DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO MARINHO.**

A otimização dos parâmetros experimentais envolvidos na extração da espécie antimônio foi constituído de duas etapas, planejamento fatorial completo e a aplicação de uma metodologia de superfície de resposta. A otimização foi desenvolvida utilizando 0,2 g de amostra e os experimentos foram realizados em ordem aleatória. As variáveis escolhidas para a otimização que influenciam na etapa de extração de antimônio foram: temperatura do banho ultrassônico, tempo de radiação de ultrassom e concentração da solução de ácido clorídrico.

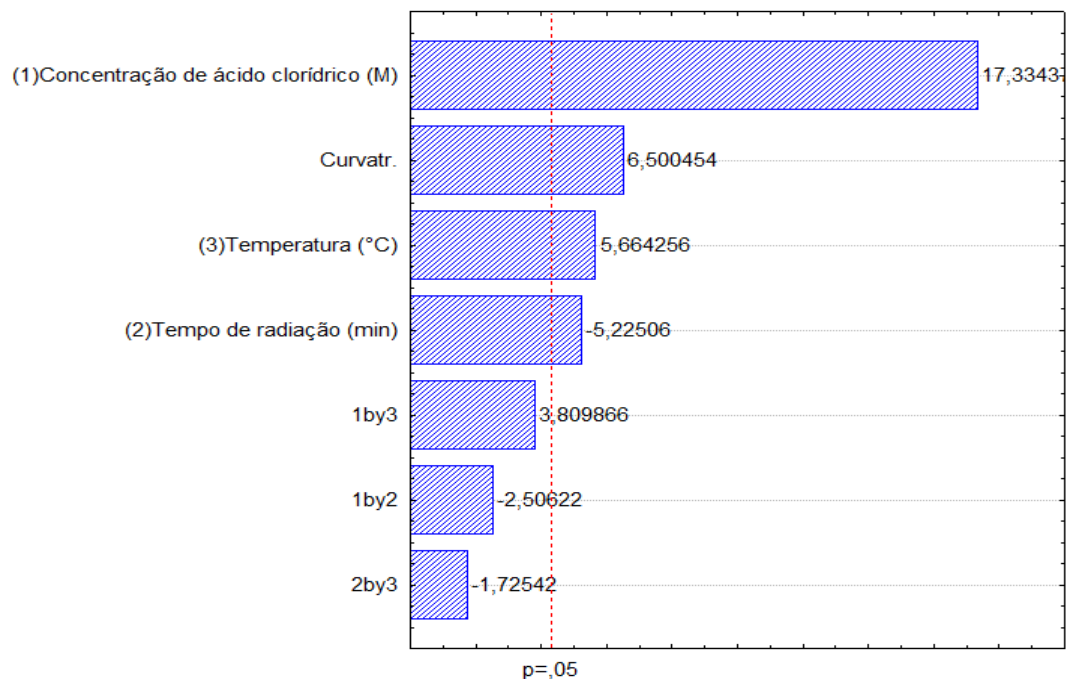
Inicialmente foi empregado um planejamento fatorial completo  $2^3$  para a otimização. A Tabela 17 apresenta os valores reais e valores codificados, bem como sinais analíticos de absorvância utilizados como resposta quimiométrica encontrados. As concentrações da solução pré-redutora KI/ácido ascórbico e a do agente mascarante citrato foram selecionados com base em valores reportados na literatura.

**Tabela 17**– Planejamento fatorial completo  $2^3$  para otimização do processo de extração de espécies de antimônio.

Experimento	Concentração de ácido clorídrico (mol L <sup>-1</sup> )	Tempo de radiação (min)	Temperatura (°C)	Absorvância
1	-1 (2,0)	-1 (20)	-1 (40)	0,02496
2	1 (6,0)	-1 (20)	-1 (40)	0,03606
3	-1 (2,0)	1 (40)	-1 (40)	0,02385
4	1 (6,0)	1 (40)	-1 (40)	0,03215
5	-1 (2,0)	-1 (20)	1 (80)	0,02713
6	1 (6,0)	-1 (20)	1 (80)	0,04449
7	-1 (2,0)	1 (40)	1 (80)	0,02434
8	1 (6,0)	1 (40)	1 (80)	0,03731
9 (PC)	0 (4,0)	0 (30)	0 (60)	0,03619
10(PC)	0 (4,0)	0 (30)	0 (60)	0,03647
11(PC)	0 (4,0)	0 (30)	0 (60)	0,03459

Com as informações obtidas através do tratamento dos resultados gerados pela matriz do planejamento fatorial completo, foi possível gerar um gráfico de Pareto (Figura 11) onde apresenta a significância de cada fator bem como a interações entre eles. Os valores obtidos foram calculados a um nível de confiança de 95%.

**Figura 11**– Gráfico de Pareto do planejamento fatorial completo para otimização da extração de antimônio.



Através do planejamento fatorial completo, foi possível calcular os efeitos de cada fator e das suas interações, que obtiveram valores de: 0,01243; 0,00406; -0,00375 para concentração de ácido clorídrico, temperatura do banho ultrassônico e tempo de radiação ultrassônico, respectivamente.

Avaliando o gráfico de Pareto e os valores dos efeitos, é possível observar que, a variável que apresentou maior significância foi a concentração de ácido clorídrico. Este resultado sugere que a extração das espécies de antimônio aumenta com o aumento da concentração do ácido clorídrico. Isso mostra o quanto a extração de uma determinada espécie é influenciada pelo solvente. Em seguida, o fator com o efeito mais significativo foi a temperatura do banho ultrassônico, que apresentou um valor positivo demonstrando que o aumento da temperatura do banho de ultrassônico favorece a extração. Isso indica uma relação direta da temperatura com o processo de extração, ou seja, em temperaturas mais elevadas pode se obter um processo de extração mais favorável. Contudo, em temperaturas muito elevadas pode haver perda do analito de interesse. O efeito do fator tempo de radiação ultrassônico também apresentou caráter significativo com um valor negativo. Este resultado indica que as espécies de antimônio são perdidas durante a

extração quando se utilizada um tempo de radiação muito grande, o que pode estar associado ao maior tempo de exposição à maiores temperaturas que a ambiente. Não foi observado interação entre os fatores escolhidos dentro do domínio experimental escolhido.

Com base nos resultados obtidos pelo planejamento de fatorial completo, foi aplicado o Box-Behnken para determinação das condições experimentais ótimas capazes de conferir uma melhor extração de antimônio nas amostras de sedimento. A Tabela 18 mostra os níveis dos fatores e as respostas quimiométricas em termos de absorvância, os quais foram medidos utilizando o procedimento para a determinação de antimônio total.

Com os dados obtidos foi possível gerar um modelo quadrático que não apresentou falta de ajuste. A partir desse modelo, foi possível gerar uma equação matemática (equação 10) para descrever a relação dos fatores escolhidos: temperatura ( $T^{\circ}$ ), tempo de radiação (TP) e concentração de HCl. A Figura 11 mostra que os valores críticos do experimento, ou seja, os valores das condições ótimas estão dentro do domínio experimental escolhido.

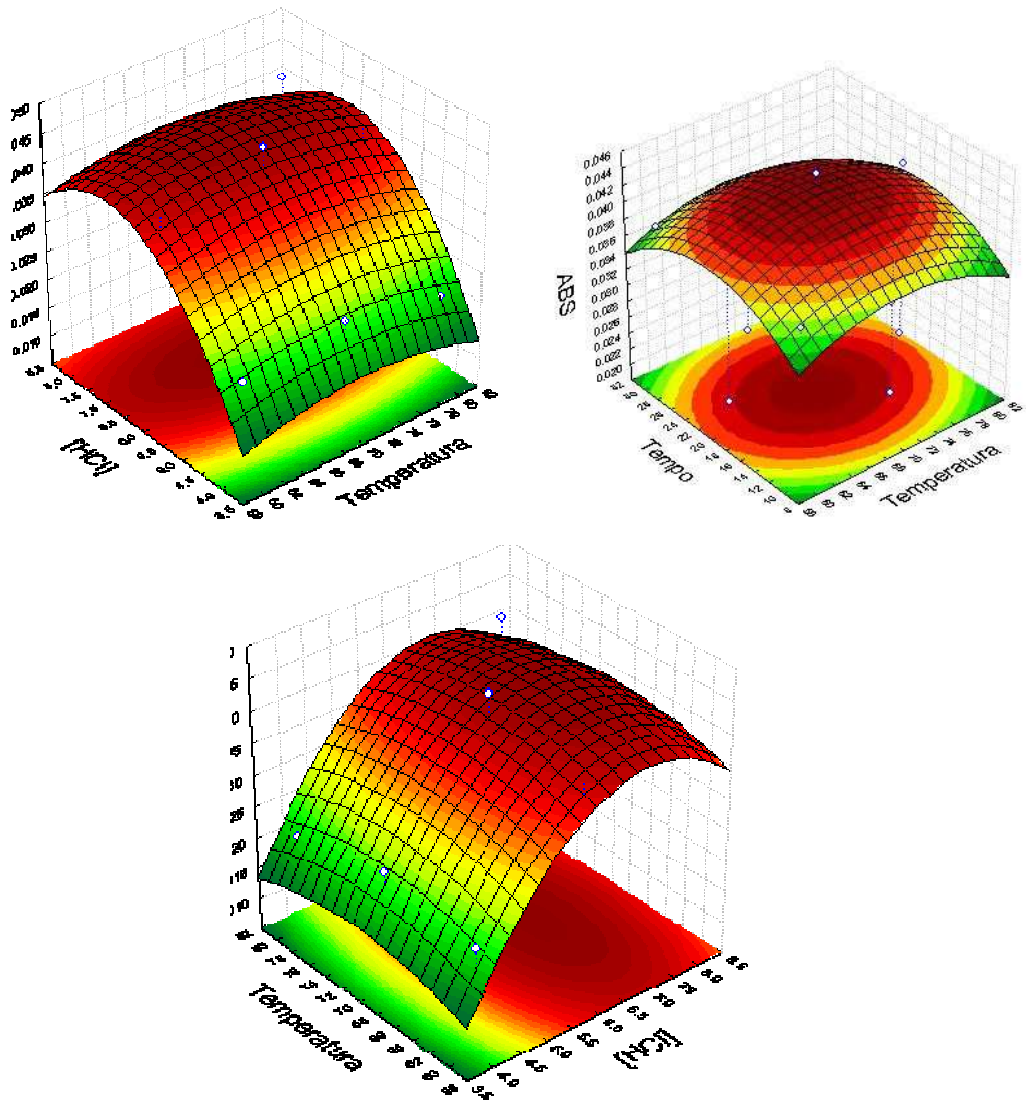


**Tabela 18-** Planejamento Box-Behnken para otimização do processo de extração de antimônio em amostras de sedimento.

<b>Experimento</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo de radiação (min)</b>	<b>[HCl]</b>	<b>Sinal de absorvância</b>
1	60 (-1)	10 (-1)	6 (0)	0,03683
2	80 (1)	10 (-1)	6 (0)	0,03495
3	60 (-1)	30 (1)	6 (0)	0,03726
4	80 (1)	30 (1)	6 (0)	0,03619
5	60 (-1)	20 (0)	4 (-1)	0,02185
6	80 (1)	20 (0)	4 (-1)	0,02022
7	60 (-1)	20 (0)	8 (1)	0,03779
8	80 (1)	20 (0)	8 (1)	0,04140
9	70 (0)	10 (-1)	4 (-1)	0,02390
10	70 (0)	30 (1)	4 (-1)	0,01960
11	70 (0)	10 (-1)	8 (1)	0,03490
12	70 (0)	30 (1)	8 (1)	0,03868
13	70 (0)	20 (0)	6 (0)	0,04462
14	70 (0)	20 (0)	6 (0)	0,04442
15	70 (0)	20 (0)	6 (0)	0,03839

**Equação (10)**  $-ABS = 0,042 - 0,000121(T^\circ) - 0,002562(T^\circ)^2 + 0,000144(TP) - 0,003607(TP)^2 + 0,0084[HCl] - 0,009600[HCl]^2$

**Figura 12**– Superfícies de resposta obtidas pelo planejamento Box Behnken para otimização de extração de antimônio em sedimento.



A aplicação da metodologia de superfície de resposta utilizando o planejamento Box-Behnken demonstrou que as condições ótimas para melhor desempenho de extração das espécies de antimônio nas amostras de sedimento estavam dentro do domínio experimental escolhido. Os valores ótimos foram: temperatura do banho de ultrassônico de 70,99 °C, tempo de irradiação ultrassônica

de 21,51 min e concentração de ácido clorídrico de 5,92 mol L<sup>-1</sup>. Porém, devido a limitações operacionais dos equipamentos, os valores foram ajustados de acordo com a Tabela 19.

**Tabela 19** – Valores estabelecidos para extração de antimônio em amostras de sedimento

	Mínimo	Crítico	Máximo
Temperatura do banho ultrassônico (°C)	60	70	80
Tempo de irradiação (min)	10	20	30
Concentração de HCl (mol L <sup>-1</sup> )	3	6	7

## 5.5. FIGURAS DE MÉRITO

O método proposto foi validado segundo as normas estabelecidas pela IUPAC, para avaliação da interferência da matriz na determinação do antimônio, foi realizada a comparação das inclinações das curvas de calibração externa (equação 11) com a técnica de adição de analito (equação 12). Os valores encontrados mostram que não há diferença significativa entre os dois valores a um nível de confiança de 95%, indicando que a curva de calibração externa pode ser utilizada para a quantificação de antimônio nas amostras de sedimento, pois não há interferência de matriz na determinação.

$$\text{Equação (11) } -\text{ABS} = (0,0396 \pm 0,0018)[\text{Sb } \mu\text{g L}^{-1}] + (0,0262 \pm 0,01095)$$

$$\text{Equação (12) } -\text{ABS} = (0,0365 \pm 0,0021)[\text{Sb } \mu\text{g L}^{-1}] + (0,0493 \pm 0,0128)$$

Utilizando a técnica de calibração externa, foram obtidos os parâmetros analíticos, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram determinados através da leitura de 10 brancos da curva de calibração externa e precisão estimada como desvio-padrão relativo (RSD%) foi determinada fazendo 7 leituras consecutivas de um padrão de 5  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Os valores destes parâmetros são apresentados na tabela 20.

**Tabela 20**– Valores de LD, LQ e RSD (%) para o método proposto.

LD ( $\text{ng g}^{-1}$ )	0,70
LQ ( $\text{ng g}^{-1}$ )	2,34
RSD (%)	5,6

A exatidão do método foi avaliada através da análise de duas amostras de materiais de referência certificado de sedimento fornecidos pelo National Research Council Canada, o MESS-2 e o PACS-2. O valor certificado da concentração de antimônio total e os resultados obtidos pelo método proposto de extração de antimônio em amostras de sedimento estão apresentados na tabela 21. As concentrações de antimônio total obtidas pelo método foram concordantes com os valores certificados.

**Tabela 21** – Valores de antimônio total certificados e valores encontrados pelo método de extração de antimônio em amostras de sedimento.

CRM	Encontrado( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Certificado( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
MESS-2	1,29 $\pm$ 0,09	1,09 $\pm$ 0,13
PACS-2	10,3 $\pm$ 1,2	11,3 $\pm$ 2,6

Para reforçar os valores encontrados na aplicação do método no material de referência, foi realizado um estudo de recuperação de analito que constituiu na adição de diferentes concentrações conhecidas de antimônio na amostra. Os valores de recuperação para antimônio nas amostras de sedimento podem ser encontrados na Tabela 22, onde os valores de recuperação variaram de 96,5 a 113%.

**Tabela 22**– Valores de adição/recuperação para antimônio em amostras de sedimento.

Amostra	Sb encontrado (ng g <sup>-1</sup> )	Sb adicionado (ng g <sup>-1</sup> )	Recuperação
1	89,1	-	-
	202,0	100	113
2	73,4	-	-
	170,0	100	96,5
3	45,3	-	-
	152,3	100	107

O método proposto para determinação de antimônio em amostras de sedimento, foi aplicado para a determinação do Sb total e Sb (III) em 6 amostras reais de sedimento coletados no Estuário São Paulo, Bahia, Brasil. Os valores de concentrações de Sb total variaram de 45,3 a 89,1 ng g<sup>-1</sup>. As concentrações para Sb (III) ficaram na faixa de 17,7 a 31,4 ng g<sup>-1</sup>. Os valores de Sb (V) encontrados na tabela 22 foram determinados por diferença entre os valores de Sb total e Sb (III) e variaram de 26,1 a 55,7 ng g<sup>-1</sup>. Pode-se observar que em todas as amostras de sedimento analisadas os valores de concentração de Sb (V) foram sempre maiores que a de Sb (III). Este aspecto pode ser considerado positivo devido ao fato do Sb (III) possuir toxicidade mais elevada que o Sb (V). Estes resultados estão de acordo com a literatura que relatam a predominância de Sb (V) em sistemas aeróbicos

como água do mar e água doce. Todos os resultados expressos como intervalo de confiança (95% no nível) são mostrados na tabela 23.

**Tabela 23**– Análise de especiação de antimônio em sedimento do Estuário São Paulo (Bahia, Brasil).

Amostra	Concentração (ng g <sup>-1</sup> )		
	Sb total	Sb (III)	Sb (V)
1	89,1±0,1	26,2±0,08	62,9±0,7
2	73,4±0,8	17,7±0,1	55,7±1,8
3	45,3±0,4	19,2±0,1	26,1±0,5
4	66,9±0,3	27,8±0,8	39,1±0,7
5	68,5±0,5	31,4±0,4	37,1±0,5
6	80,1±0,2	22,3±0,1	57,8±0,6

## **6. SISTEMA AUTOMATIZADO EM LINHA PARA DETERMINAÇÃO E ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO EM ANTIMÔNIO ORGÂNICO E INORGÂNICO TOTAL EM AMOSTRAS SOLO EMPREGANDO HG AFS**

A determinação de antimônio em amostras de solo se torna relevante devido a correlação entre a sua concentração no solo e de partículas atmosféricas. Esta associação pode estar relacionada com o uso do antimônio em diversos constituintes, na fabricação de pastilhas de freio, como retardadores de chama, em vulcanização de borracha usada na fabricação de pneus ou por meios naturais, como são os casos de emissões por vulcões (SMICHOWSKI; MADRID, 1998)

### **6.1. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

#### **6.1.1. Instrumentação**

As medições realizadas durante este trabalho foram feitas por espectrômetro de fluorescência atômica (AFS) (PS Analytical Millennium System, Kent UK) constituído por uma lâmpada de cátodo oco de antimônio (Photron Super Lamp, Victoria, Austrália) como fonte de radiação que funcionava com a seguinte configuração: uma corrente primária de 17,5 mA; uma corrente secundária de 15,0 mA e um comprimento de onda de 217,6 nm. Os sinais obtidos durante as medidas foram analisados através da altura do pico.

Um módulo de buretas multiseringa (BU4S; Instrumentos de Crison, Espanha) com taxa de fluxo automatizadas, estava equipado com quatro seringas de vidro (S1, S2, S3 e S4) (Hamilton, Suíça) conectado a um bloco com motor de passo único. As seringas possuíam as seguintes características: a S1 com capacidade de 10,0 mL continha a solução transportadora (água Ultrapura) e foi conectada a porta central do LOV através de uma tubulação de politetrafluoretileno (PTFE), de 1,5 mm de diâmetro, que trabalhava como uma bobina de retenção (HC). As outras seringas restantes, S2 (2,5 mL), S3 (5,0 mL) e S4 (5,0 mL) foram utilizadas para dispensar as soluções de reagentes iodeto de potássio (KI), ácido clorídrico (HCl) e borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>), respectivamente, para a linha do sistema.

Cada uma das seringas possuía uma válvula solenoide de três vias (N-pesquisa, EUA) na ponta, como mostra a figura 13, que facilitava a aplicação multicomutada, permitindo assim uma comunicação com os reservatórios dos líquidos na posição OFF, ou com a linha ou com a LOV quando ativada na posição ON. A rede que interligava o sistema de fluxo era constituída por tubos de PTFE que possuía um diâmetro de 0,8 mm, com exceção do tubo da linha que conectava a seringa S1 com o canal de comunicação (CC) que possuía um diâmetro de 1,5 mm. O módulo multiseringas estava equipado com uma válvula solenoide adicional (SV) conectada a porta periférica 1 da LOV que permitia o desvio da amostra através da microcoluna na posição ON e para a retirada e limpeza do canal na posição OFF. Foram utilizados no sistema dois conectores de metacrilato C1 e C2 empregados na etapa de especiação do antimônio. No conector C1 há a mistura da solução pré-reductora com a amostra e logo em seguida direcionada para a bobina de reação (RC). O conector C2 era responsável por proporcionar o encontro da mistura feita na localizada na RC com os demais reagentes, ácido clorídrico e borohidreto de sódio para geração do hidreto que era encaminhado ao GLS.

Para garantir uma retirada mais significativa de líquido (umidade), que pudesse interferir no sinal de intensidade de fluorescência atômica, após a passagem do vapor formado pelo GLS, foi realizada uma secagem com uma membrana Perma Pure (Perma Pure Inc., New Jersey - EUA) conectado a saída do GLS utilizando gás nitrogênio a um fluxo de  $50,0 \text{ mL min}^{-1}$ . Como gás de transporte, foi utilizado Argônio a um fluxo de  $100 \text{ mL min}^{-1}$  e também foi utilizado gás hidrogênio a um fluxo de  $30 \text{ mL min}^{-1}$  como suplemento para manter a chama do AFS sempre acesa.

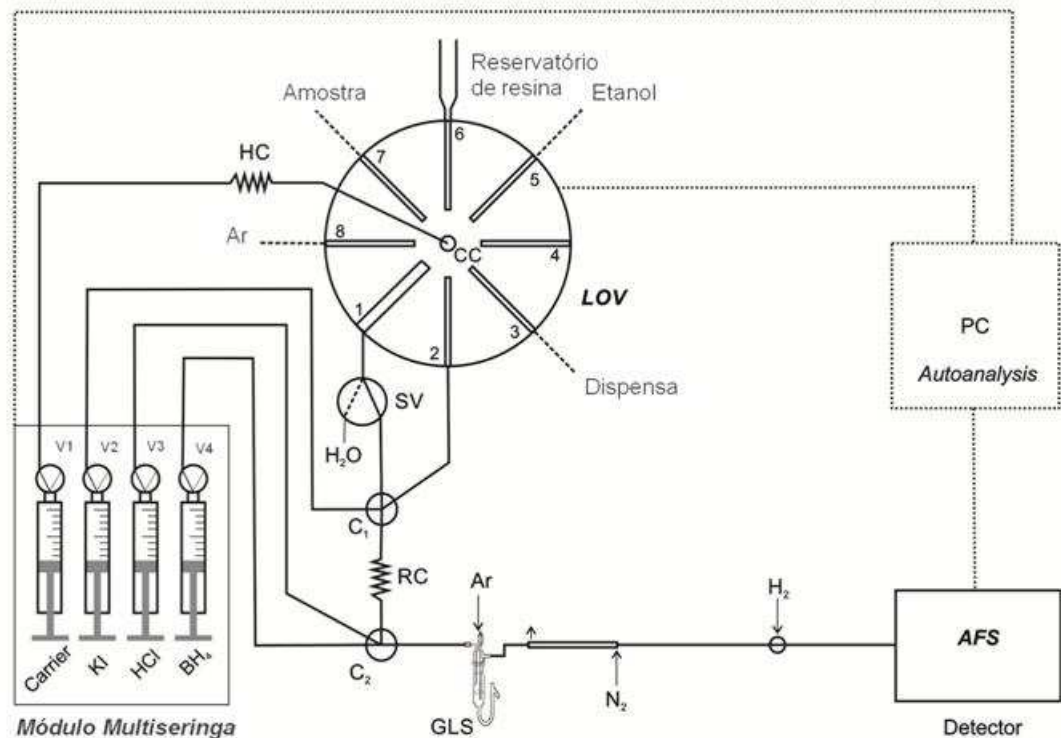
Durante os experimentos, o controle dos instrumentos (multiseringa, posições da LOV e válvulas), bem como a obtenção e processamento dos dados adquiridos, foram realizados utilizando o software Autoanalysis 5.0 (Sciware System, Bunyola, Espanha).

Uma plataforma Lab-on-Valve (LOV) (Sciware, Espanha) fabricada em metacrilato que continha sete microcanais de 1,5 mm de diâmetro por 16,0 mm de comprimento integrados e um microcanal de 3,2 mm de diâmetro por 16,0 mm de comprimento que foi utilizado como microcoluna. A LOV foi montada em cima de



uma válvula de seleção multiposições (SV) (Multiburette 4S; Crison Instruments, Espanha) automatizada de oito vias. A LOV possuía uma porta central, ligada a S1 por uma bobina de retenção, onde era utilizada para conectar as outras oito vias (1-8) para aspiração e injeção sequencial dos componentes utilizados no método, através do canal de comunicação central (CC) da válvula de seleção. Um dos canais LOV (figura 13) era utilizado como suporte para microcoluna de resina renovável. Para permitir que a solução fluísse livremente pela coluna, a saída da microcoluna (porta 1) foi equipada com um microdisco de polietileno com porosidade de 10 µm (Mo Bi Tec, Gottingen, Alemanha) para conter a resina adsorvente no interior da cavidade selecionada do módulo LOV e impedir que escapasse. A porta periférica 6 foi utilizada como reservatório da resina ligada a uma seringa de plástico de 3,0 mL montada verticalmente no sistema integrado, enquanto a porta 3 era utilizada para eliminação dos resíduos de sorvente. Para limpeza da microcoluna, foi utilizado etanol que possuía um reservatório conectado a porta periférica 5. A porta periférica 8, era utilizada para aspiração prévia de um pouco de ar antes da aspiração da resina para evitar que a mesma fosse dispersa na solução transportado e levada para outras partes do sistema. A entrada de amostra no sistema foi realizada através da porta periférica 7, as portas periféricas 1 e 2 foram empregadas para determinação e especiação de Sb e também empregada com um fluxo controlado por pressão para empurrar as soluções contidas na bobina de reação (RC) para o conector C1, onde em C2 esta solução era misturada com ácido clorídrico e borohidreto de sódio para geração do hidreto e separação dos constituintes no separador gás-liquido. A porta periférica 4 ficou inoperante durante a realização dos experimentos. A Figura 13 mostra um diagrama esquemático da plataforma de integração sistema MSFIA - LOV para determinação e análise especiação de Sb automatizada por HG AFS.

**Figura 13** – Sistema MSFIA – LOV para determinação e análise de especiação de antimônio.



## 6.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados durante este trabalho foram de grau analítico. Para o preparo das soluções foi utilizada água ultra-pura com resistividade específica de 18,2 MΩ cm de resistividade) obtida através de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA). Todos os recipientes de vidro e plástico utilizados foram lavados em seguida, esterilizados após imersão em uma solução de ácido nítrico 10% (v/v) e enxaguados com água ultrapura para serem usados.

Uma solução padrão 1000 mg L<sup>-1</sup> de Sb (III) foi preparada a partir da dissolução de tartarato de potássio de antimônio (Carlo Erba, Cornaredo, Itália) em uma solução de HCl 3,0 mol L<sup>-1</sup> (Scharlau, Espanha). Para o preparo da solução padrão de 1000 mg L<sup>-1</sup> de Sb (V) foi utilizado o ácido piroantimoniato de potássio

(Carlo Erba, Cornaredo, Itália) previamente dissolvido em uma solução de HCl 3,0 mol L<sup>-1</sup> (Scharlau). Uma solução padrão de 1000 mg L<sup>-1</sup> de brometo de trimetilantimônio (V) (Sigma-Aldrich, Alemanha) foi preparada em água Milli-Q. Todos os padrões foram armazenados e mantidos resfriados a 4° C.

A solução de boridreto de sódio de 1,5% (m/v) (Scharlau) Foi preparada diariamente após dissolução em uma solução de hidróxido de sódio 0,05% (m/v). Como agente mascarante para o Sb (V), foi utilizado uma solução 1% (m/v) de 8-hidroxiquinolina, preparada a partir da dissolução de 1,0 g de 8-hidroxiquinolina (AnalaR\*, A. R.) em 10 mL de metanol (99,8% Caledon) e em seguida diluídos para 100 mL com HCl 10% (v/v). Como solução pré-redutora, foi utilizado uma mistura de iodeto de potássio 10% (m/v) com ácido L-ascórbico 2% (m/v). Para preencher a microcoluna, foi utilizada aproximadamente 0,1 mg de uma resina de troca catiônica DOWEX® 50W-X8 para retenção de espécies de antimônio na forma orgânica

### **6.3. COLETA E TRATAMENTO DAS AMOSTRAS**

Todos os materiais utilizados para coleta e preparo das amostras foram esterilizados imediatamente antes da primeira utilização. As amostras de solo foram coletadas em 13 diferentes lugares da cidade de Maiorca, Ilhas Baleares, Espanha.

Foram coletadas amostras superficiais de solo que foram secas a 50 °C por 48 h e em seguida moídas e peneiradas em uma peneira de 250 µm. As amostras foram armazenadas em frasco plástico, até análise.

### **6.4. PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO**

Para determinação e análise de especiação de antimônio em amostras de solo foi esquematizada uma sequência operacional automatizada que consistia em um ciclo envolvendo quatro etapas onde ocorriam o pré-condicionamento, empacotamento da microcoluna, determinação de Sb total (orgânico + inorgânico), retenção de espécies orgânicas, determinação do Sb inorgânico total [Sb (III) + Sb (V)] com o uso do agente pré-redutor, determinação do Sb (III), transporte do vapor

gerado ao AFS, sistema de limpeza e finalmente eliminação de adsorvente, conforme descrito abaixo, com base no esquema da Figura 13:

### **1 – Empacotamento da resina na microcoluna no canal C1 da LOV**

Primeiramente o canal de comunicação central (CC) da LOV foi conectado à porta periférica 8 (V1 ativado no modo ON) e um volume de 100  $\mu\text{L}$  ar aspirado para dentro de HC com o auxílio S1; a utiliza-se deste artifício a fim de evitar a dispersão de resina em solução transportadora. Com a V1 mantida na posição ON, um pequeno volume (100  $\mu\text{L}$ ) aproximadamente 0,1 g de suspensão da resina foi aspirada lentamente para a HC. Em seguida, o CC, conectado à porta periférica 1 (microcoluna), dispensava a suspensão com o auxílio da S1.

### **2 – Determinação total de antimônio**

Esta etapa foi utilizada para determinação total (espécies orgânicas e inorgânicas) o CC se conecta com a porta periférica 7 e a V1 na posição ON onde é aspirado 1,0 mL de amostra pela HC com o auxílio da S1. Logo depois, o CC se conecta a porta periférica 2 e é dispensado 1 mL a uma vazão de  $5 \text{ mL min}^{-1}$ . Com a V1 e a V2 na posição ON. Nesta etapa, a amostra entra em contato com a solução pré-redutora (0,25 mL) e é empurrada à HR. Assim, as válvulas V3 e V4 são ativadas para a posição ON e a amostra é misturada com o ácido clorídrico (1,0 mL) e o borohidreto (1,0 mL) no conector C2 onde é formado o hidreto e consequentemente empurrado com o auxílio da S1 para o GLS. O hidreto então é purgado com o argônio e levado a chama do AFS. Neste momento o software aciona o detector e o sinal de fluorescência é registrado.

### **3 – Determinação de antimônio inorgânico total**

Esta etapa de determinação de antimônio inorgânico total é muito semelhante a etapa 2, mas após a aspiração da amostra para o HC o CC se conecta a porta periférica 1 com a V1 na posição ON e 1 mL de amostra é dispensada a um fluxo de  $5 \text{ mL min}^{-1}$  passando pela microcoluna (SV na posição ON) com as válvulas V1 e V2 na posição ON. Neste momento a amostra entra em contato com o agente pré-redutor (0,25 mL) e levado para o RC. Logo após, a V3 e V4 são ativadas na posição ON e a amostra é misturada no C2 aos outros reagentes, ácido clorídrico

(1,0 mL) e borohidreto (1,0 mL) a um fluxo de  $15 \text{ mL min}^{-1}$ , e é gerado o hidreto sendo empurrado com auxílio da S1 para o GLS, no qual o hidreto formado é o purgado com argônio e levado ao AFS. Nesta etapa, após a determinação de Sb inorgânica, o Sb orgânico é determinado calculado pela diferença do Sb total obtida anteriormente na etapa 2 com o Sb inorgânico.

#### **4 – Determinação de antimônio (III)**

Esta última etapa segue os mesmos passos da etapa 3, porém após a amostra passar através da microcoluna para retenção das espécies orgânicas, a V2 permanece na posição OFF e a solução pré-redutora não é dispensado. Neste último estágio é determinado o Sb (III) e o Sb (V) é calculado subtraindo-se o Sb total inorgânico obtida anteriormente na etapa 3 pelos valores de Sb (III) encontrados. A tabela 24, descreve os comandos empregados ao sistema de multisingas, para este procedimento analítico.

**Tabela 24**– sequência operacional do procedimento automático para determinação e análise de especificação de Sb usando MSFIA-LOV HG AFS.

Step	Operation	Solenoídes valves			
		V1	V2	V3	V4
<b>Empacotamento da resina na microcoluna no canal C1 da LOV</b>					
1	Aspirar ar para HC	On	Off	Off	Off
2	Aspire a resina para HC	On	Off	Off	Off
3	Dispensar a resina (empacotamento de resina)	On	Off	Off	Off
<b>Determinação total de antimônio</b>					
4	Aspirar amostra para HC	On	Off	Off	Off
5	Dispensar amostra e KI para RC	On	On	Off	Off
6	Dispensar amostra do RC e reagents para o GLS	On	Off	On	On
7	Medida PSA Excalibur	Off	Off	Off	Off
<b>Determinação de antimônio inorgânico total</b>					
8	Aspirar amostra para HC	On	Off	Off	Off
9	Dispensar amostra para passage na microcoluna	On	Off	Off	Off
10	Dispensar do RC e reagents para GLS	On	Off	On	On
11	Medida PSA Excalibur	Off	Off	Off	Off
<b>Determinação de antimônio (III)</b>					
12	Aspirar amostra para HC	On	Off	Off	Off
13	Dispensar amostra para passage na microcoluna	On	On	Off	Off
14	Dispensar do RC e reagents para GLS	On	Off	On	On
15	Measure PSA Excalibur Instrument	Off	Off	Off	Off
16	Medida PSA Excalibur	On	Off	Off	Off
17	Dispensar a resina utilizada para resíduos	On	Off	Off	Off

V1-V4: válvulas solenóides de três vias da seringa; SV: válvula de solenóide adicional; HC: bobina de retenção; RC: Bobina de reação; CC: canal de comunicação central; C1-C2: conectores de metacrilato; GLS: separador gás-liquido; LOV: plataforma lab-on-valve.

## 6.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.5.1. Otimização dos resultados para determinação e análise de especiação de Sb usando MSFIA-LOV HG AFS.

Para otimização das condições experimentais para geração de hidreto no sistema proposto para determinação e especiação de antimônio por MSFIA-LOV HG AFS, alguns parâmetros foram fixados como: natureza e quantidade de resina e tamanho da coluna usado para retenção das espécies orgânicas de antimônio, taxa de fluxo do eluente, concentração da solução de 8-hidroquinolina, concentrações de iodeto de potássio e ácido ascórbico e fluxo dos gases (Argônio e Hidrogênio) tendo em conta relatos na literatura e experiências anteriores realizadas no laboratório. Assim, os fatores utilizados para otimização do sistema foram: taxa de fluxo da amostra, borohidreto de sódio e concentração de ácido clorídrico. Em primeiro lugar, foi realizado um planejamento fatorial completo  $2^3$ , adicionando três experimentos realizados no ponto central para determinar qualquer erro experimental e avaliar a curvatura. A tabela 25 mostra a matriz do planejamento juntamente com os domínios experimentais dos três fatores estudados (como valores codificados e reais) e as respostas quimiométricas (altura de pico antimônio determinada empregando AFS).

Os dados obtidos foram processados e os resultados são mostrados no gráfico de Pareto (figura 14), que demonstra graficamente (por valores dos efeitos padronizados) a significância ou não dos fatores selecionados e suas interações no processo estudado.

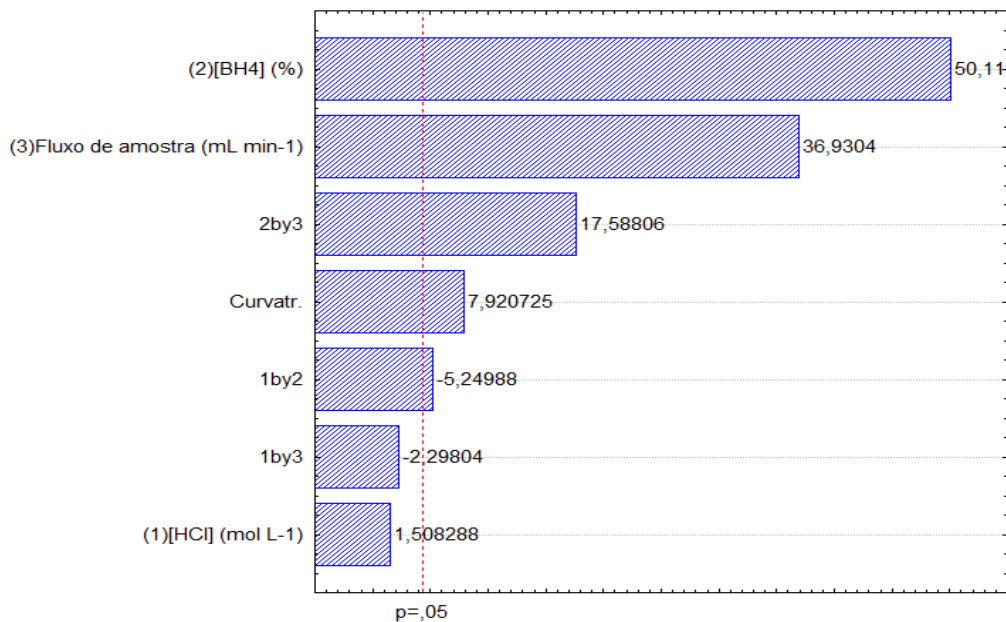
**Tabela 25**– Planejamento fatorial completo  $2^3$  para otimização das condições experimentais para geração de hidreto no sistema MSFIA-LOV HG AFS

Experimento	[HCl] (mol L <sup>-1</sup> )	[BH <sub>4</sub> ] (%)	Fluxo de amostra (mL min <sup>-1</sup> )	Fluorescência
1	-1 (2,0)	-1 (0,4)	-1 (3,0)	19,41
2	+1 (5,0)	-1 (0,4)	-1 (3,0)	24,77
3	-1 (2,0)	+1 (1,0)	-1 (3,0)	35,86
4	+1 (5,0)	+1 (1,0)	-1 (3,0)	33,44
5	-1 (2,0)	-1 (0,4)	+1 (7,0)	29,63
6	+1 (5,0)	-1 (0,4)	+1 (7,0)	29,49
7	-1 (2,0)	+1 (1,0)	+1 (7,0)	55,94
8	+1 (5,0)	+1 (1,0)	+1 (7,0)	55,47
PC	0 (3,5)	0 (0,7)	0 (5,0)	38,22
PC	0 (3,5)	0 (0,7)	0 (5,0)	39,05
PC	0 (3,5)	0 (0,7)	0 (5,0)	38,02

\*ponto central



**Figura 14**– Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial completo  $2^3$  para otimização das condições experimentais para geração de hidreto no sistema MSFIA-LOV HG AFS.



Assim, uma avaliação do gráfico de Pareto mostrou que os fatores e as interações significativas para o planejamento fatorial completo no domínio experimental selecionado, são: concentração de borohidreto de sódio (efeito = 50,11), taxa de fluxo da amostra (efeito = 36,93), a interação concentração de borohidreto de sódio x taxa de fluxo de amostra (efeito = 17,59) e concentração de ácido clorídrico x interação de concentração de borohidreto de sódio (efeito = -5,25). A partir dos valores de efeitos encontrados, pode-se analisar que concentração de borohidreto de sódio é o fator principal, com um efeito positivo. Isso é esperado, já que o composto participa diretamente da reação de geração de vapor como agente redutor. O fator de taxa de fluxo de amostra também mostrou um efeito positivo. Isto evidencia a rápida cinética de formação do hidreto de antimônio e também porque as medições analíticas por AFS foram realizadas usando a altura do pico. Uma taxa de fluxo baixa induz a uma diluição do hidreto gerado pelo gás portador. A interação concentração de borohidreto de sódio x interação de taxa de fluxo de amostra foi significativa com efeito positivo. Na tabela 25 pode ser observado que essa interação é positiva para os experimentos 1, 2, 7 e 8. No entanto, a condição ideal para a formação de hidreto ocorre quando ambos os fatores estão no nível positivo,

como pode ser visto nos experimentos 7 e 8, isso também pode ser explicado pela cinética de formação do hidreto, aumentando a concentração de borohidreto e o fluxo de amostras, maior será a formação de vapor. O planejamento fatorial mostrou também que o fator de concentração de ácido clorídrico não foi significativo, entretanto a interação concentração de ácido clorídrico x concentração de borohidreto de sódio também foi significativa, logo esta variável precisa ser estudada novamente.

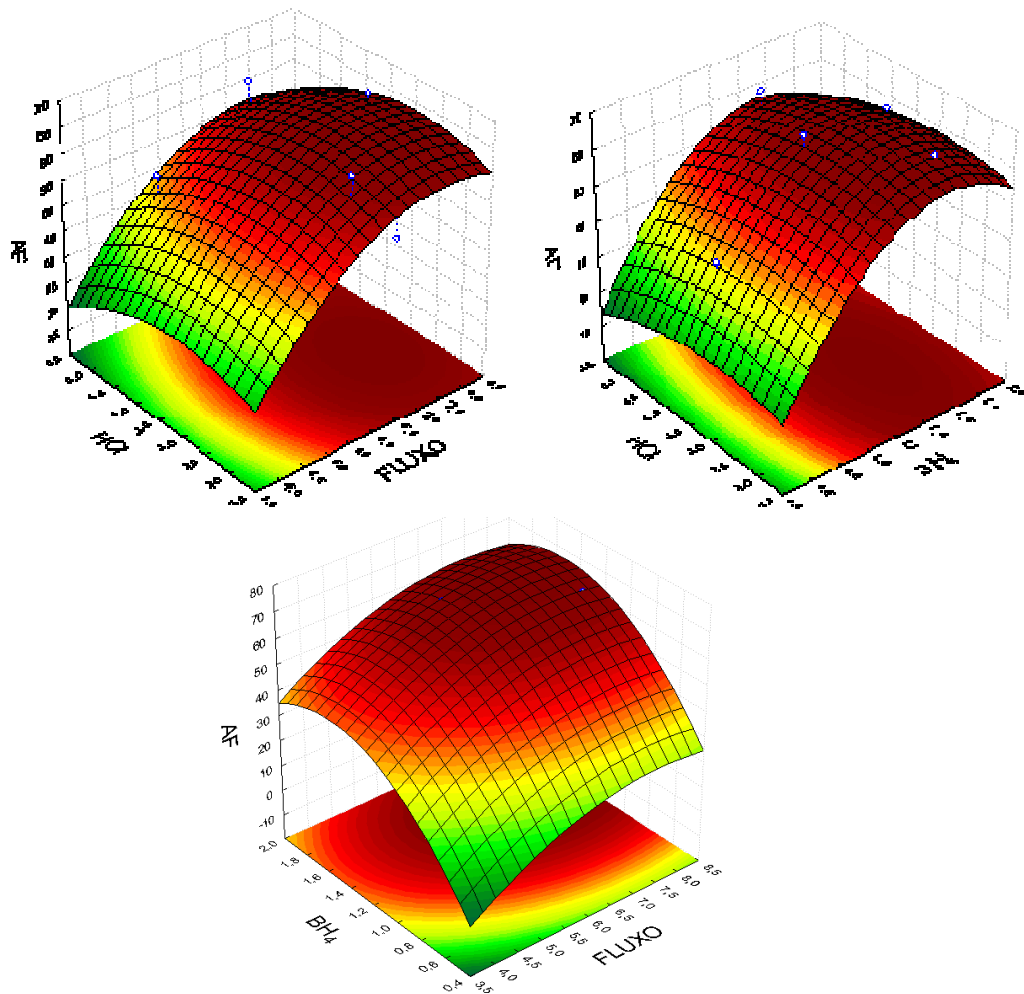
A partir dos resultados obtidos, foi aplicado uma metodologia de superfície de resposta com um planejamento de matriz de Doehlert para encontrar a melhor condição experimental do sistema proposto. Os valores reais e codificados dos domínios experimentais dos fatores e as respostas quimiométrica são mostrados na tabela 26.

**Tabela 26** – Matriz Doehlert para otimização das condições experimentais para geração de hidreto no sistema MSFIA-LOV HG AFS

EXP	Fluxo de amostra (ml min <sup>-1</sup> )	[BH4] (%)	HCl	Fluorescência
1	0 (6)	0 (1,2)	0 (3,5)	61,09
2	1 (8)	0 (1,2)	0 (3,5)	66,19
3	0,5 (7)	0,866 (1,8)	0 (3,5)	64,12
4	0,5 (7)	0,289 (1,4)	0,817 (5,0)	63,83
5	-1 (4)	0 (1,2)	0 (3,5)	42,85
6	-0,5 (5)	-0,866 (0,6)	0 (3,5)	29,37
7	-0,5 (5)	-0,289 (1,0)	-0,817 (2,0)	51,84
8	0,5 (7)	-0,866 (0,6)	0 (3,5)	41,96
9	0,5 (7)	-0,289 (1,0)	-0,817 (2,0)	50,79
10	-0,5 (5)	0,866 (1,8)	0 (3,5)	54,53
11	0 (6)	0,577 (1,6)	-0,817 (2,0)	66,58
12	-0,5 (5)	0,289 (1,4)	0,817 (5,0)	52,64
13	0 (6)	-0,577 (1,6)	0,817 (5,0)	38,64

Os resultados obtidos geraram um modelo quadrático (sem falta de ajuste), que evidenciou condição experimental ótima nas condições de geração de hidreto de antimônio. Com o modelo quadrático foi possível gerar a equação que descreve as superfícies de resposta, (figura 15), que demonstram região de máximo.

**Figura 15** – Superfícies de resposta gerado a partir do planejamento Doehlert para o sistema MSFIA-LOV HG AFS



Assim, os valores dos fatores críticos encontrados nas condições experimentais otimizadas foram: concentração do ácido clorídrico de  $3,92 \text{ mol L}^{-1}$ , concentração de borohidreto de sódio de  $1,48\%$  e taxa de fluxo da amostra de  $7,42 \text{ mL min}^{-1}$ . Além disso, a análise de Variância demonstrou que o fator de concentração de ácido clorídrico e todas as suas interações não foram significativas.

Desta forma, os valores de concentração de ácido clorídrico, a concentração do borohidreto de sódio e a taxa de fluxo da amostra utilizados durante o método estão dispostos na tabela 27.

**Tabela 27** – Valores otimizados para determinação e análise de especiação de antimônio em amostras de solo usando MSFIA-LOV HG AFS.

<b>Fatores otimizados</b>	<b>Condição experimental</b>
<b>Acidez da amostra</b>	3,0 mol L <sup>-1</sup>
<b>[NaBH<sub>4</sub>]</b>	1,5 % (m/v)
<b>Vazão da amostra</b>	7,5 mL min <sup>-1</sup>

### 6.5.2. Características analíticas

A precisão do método foi avaliada e expressa em termos de desvio padrão relativo (RSD %), determinado através da medida de dez repetições de uma solução de antimônio 5,0 µg L<sup>-1</sup> onde apresentou um valor de 3,2%. O sistema apresentou uma curva de calibração externa linear descrita pela equação AFS = (11,565 ± 1,207) [Sb µg L<sup>-1</sup>] + (6,144 ± 2,156). Experiências que envolvam a técnica de adição de analito para uma amostra de solo, gerou a equação AFS = (11,118 ± 1,007) [Sb µg L<sup>-1</sup>] + (61,809 ± 6,526). Como podem ser observadas, as inclinações das duas curvas não apresentaram diferença significativa com nível confiança de 95%. Este teste demonstra que a curva de calibração externa pode ser utilizada para a quantificação de antimônio nas amostras de solo, pois não há interferência de matriz na determinação. Estes resultados foram conclusivos para garantir que a técnica de calibração externa pudesse ser aplicada para o método proposto para determinar o antimônio em amostras de solo.

Nestas condições, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram de 0,91 e 3,1 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente, considerando a massa de amostra processada

de 0,1 g. A exatidão do método foi avaliada e confirmada usando o CRM Trace metals - Loamy clay 1 fornecida pela Sigma-Aldrich RTC, onde o valor certificado de antimônio foi de  $37,90 \pm 7,00 \mu\text{g g}^{-1}$  e o valor de concentração de antimônio encontrado por este sistema analítico foi  $39,08 \pm 0,80 \mu\text{g g}^{-1}$ . Além disso, testes de adição e recuperação também foram realizados em amostras de solo, usando soluções sintéticas preparadas com Sb orgânico, Sb (V) e Sb (III). Cinco amostras foram usadas neste experimento e as recuperações encontraram variaram de 91 a 118% para Sb (III), de 84 a 115% para Sb (V) e de 89 para 116% para o Sb orgânico. Os dados obtidos são apresentados na tabela 28. Estes resultados são conclusivos para garantir que o método proposto pode ser usado de forma satisfatória para determinação de antimônio em amostras de solo.

**Tabela 28**-Testes de adição e recuperação usando cinco amostras de solo

Amostra	Massa adicionada (ng g <sup>-1</sup> )	Sb(III) encontrado (ng g <sup>-1</sup> )	Rec. (%)	Sb(V) encontrado (ng g <sup>-1</sup> )	Rec. (%)	Sb Org. encontrado (ng g <sup>-1</sup> )	Rec. (%)
1	0	70	-	138	-	19	-
	10	80	91	146	84	30	108
	50	129	118	189	102	75	111
3	0	15	-	137	-	30	-
	10	25	108	147	98	39	89
	50	73	117	190	106	82	105
4	0	14	-	130	-	28	-
	10	24	100	141	113	37	90
	50	63	98	183	108	69	83
5	0	14	-	129	-	28	-
	10	24	108	139	110	39	107
	50	69	111	171	85	76	96
6	0	86	-	130	-	46	-
	10	96	100	139	96	57	105
	50	136	101	187	115	104	116

## 6.6. APLICAÇÃO DO METODO DE DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS DE SOLO.

O método proposto foi utilizado para a análise de especiação inorgânica, orgânico total e inorgânico total de antimônio em amostras de solo coletadas na cidade de Maiorca (Espanha). Os resultados são mostrados na tabela 29. Os resultados obtidos variaram na faixa de 21 a 34  $\text{ng g}^{-1}$  para o Sb orgânico, 11 a 86  $\text{ng g}^{-1}$  de Sb (III), 106 a 172  $\text{ng g}^{-1}$  de Sb (V), de 113 a 215  $\text{ng g}^{-1}$  para Sb inorgânico total e de 261 para 136  $\text{ng g}^{-1}$  da concentração total de Sb. Em todas as amostras, o teor de Sb (V) sempre foram maiores do que do Sb (III). Também os valores de Sb orgânico são muito baixos. Os resultados para o Sb total na cidade de Maiorca (Espanha) estão concordando com os outros encontrados em outros países.

**Tabela 29** - Determinação de Sb total inorgânico, Sb total orgânico, Sb (III) e Sb (V) em amostras de solo utilizando o sistema MSFIA-LOV HG AFS

<b>Amostra</b>	<b>Sb total (ng g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Sb total inorgânico (ng g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Sb orgânico (ng g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Sb (III) (ng g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Sb (V) (ng g<sup>-1</sup>)</b>
<b>1</b>	227 ± 19	208 ± 6	22 ± 3	70 ± 3	147 ± 3
<b>2</b>	235 ± 17	202 ± 5	34 ± 2	46 ± 5	172 ± 2
<b>3</b>	181 ± 19	152 ± 7	28 ± 2	15 ± 6	142 ± 4
<b>4</b>	172 ± 18	144 ± 6	27 ± 2	14 ± 5	134 ± 5
<b>5</b>	170 ± 17	142 ± 6	26 ± 7	14 ± 5	133 ± 4
<b>6</b>	261 ± 26	215 ± 13	26 ± 2	86 ± 5	130 ± 4
<b>7</b>	162 ± 17	135 ± 8	25 ± 2	13 ± 5	126 ± 3
<b>8</b>	194 ± 20	162 ± 7	30 ± 2	16 ± 6	152 ± 4
<b>9</b>	173 ± 18	145 ± 6	27 ± 6	14 ± 5	136 ± 4
<b>10</b>	136 ± 14	113 ± 5	21 ± 1	11 ± 4	106 ± 3
<b>11</b>	172 ± 20	144 ± 6	27 ± 2	14 ± 5	134 ± 4
<b>12</b>	159 ± 18	133 ± 6	25 ± 2	13 ± 5	124 ± 4
<b>13</b>	172 ± 21	144 ± 8	27 ± 2	14 ± 5	134 ± 3

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto a realização de estudos para determinação de antimônio bem como a avaliação da biodisponibilidade das suas espécies em sistemas ambientais e biológicos decorrente de processos naturais e/ou atividade humana, torna-se de fundamental importância devido a toxicidade deste metal mesmo em níveis baixos. A preocupação em relação a esse metal vem crescendo exponencialmente, devido principalmente a emissão antropogênica, uma das principais causas de emissão no ambiente.

Além disso, a toxicidade deste elemento independe do seu estado de oxidação, tão quanto sua forma (inorgânica ou orgânica), sendo assim para conhecer a potencial atuação do antimônio nestes sistemas se faz necessário não só avaliar valores totais, mas conhecer também como está distribuída as espécies.

Assim, o desenvolvimento de metodologias analíticas sensíveis, seletivas, que apresentem baixos limites de detecção e quantificação para analisar e quantificar as espécies se torna de extrema importância. As técnicas AAS e AFS permitem analisar, bem como avaliar as possíveis espécies de antimônio presentes nas amostras. hifenada com a geração de hidretos, estas técnicas apresentam maior sensibilidade aos métodos, devido as suas vantagens a métodos tradicionais.

A análise de especiação de antimônio torna-se de extrema importância para uma melhor compreensão e informações sobre a mobilidade, biodisponibilidade e impacto desses em sistemas ambientais e biológicos dos seus efeitos, bem como a sua atuação.

O uso das técnicas espectrométricas, absorção e fluorescência atômica, mostraram-se sensíveis para determinação de antimônio nas amostras selecionadas.

A utilização de um planejamento fatorial permitiu um estudo detalhado, rápido e bastante satisfatório no levantamento das significâncias das variáveis escolhidas, onde foi possível detalhar seus efeitos e interações que mais contribuíam para o sistema. Este conhecimento é importante para direcionar os próximos passos a serem seguidos ao longo do processo de análise. A otimização multivariada utilizada envolvendo, planejamento Box-Behnken e matriz de



Doehlert, permitiram uma otimização racional dos sistemas propostos desenvolvido neste trabalho. Com isso, um menor número de experimentos foi realizado, economizando tempo, diminuindo o uso de reagentes.

A metodologia utilizada para procedimento estabelecido na preparação de amostras de tecido de músculo de peixe utilizando pequenos volumes de ácido nítrico, permitiu um método com o limite de quantificação suficiente para determinação de antimônio nessas amostras. As técnicas de otimização multivariadas permitiram a obtenção de um procedimento que envolve a geração de hidreto em ácido nítrico acoplada a espectrometria de absorção atômica (AAS) para a determinação de antimônio total com precisão e exatidão.

As concentrações de antimônio encontradas em amostras de peixe analisados estão de acordo com outros dados relatados por outros autores e em outros países. A relativamente poucos dados sobre a concentração de antimônio em amostras de peixe, principalmente em dados de trabalhos no Brasil também.

O método para extração de espécies de antimônio em amostras de sedimento apresentou limites de detecção e quantificação, sensibilidade e robustez necessária para análise de especiação de antimônio. Pode-se observar que os resultados obtidos em relação às espécies de antimônio encontradas estão de acordo com trabalhos descritos na literatura, onde o teor de Sb (V) foi sempre maior que Sb (III), essa informação se torna importante devido ao fato das diferentes toxicidades das duas espécies.

A utilização de banho ultrassônico para extração de antimônio nas amostras de sedimento marinho pode ser utilizado satisfatoriamente sem mudança no estado de oxidação das espécies. O trabalho relata os primeiros dados sobre conteúdos de espécies de antimônio inorgânicos em amostras de sedimento coletadas da Baía de Todos os Santos, do estado da Bahia, Brasil.

A determinação das espécies de antimônio em amostras de solo por LOV-MSFIA-HG AFS mostrou-se de fundamental importância pelo devido a migração do mesmo para fontes de água ou até mesmo de alimentos mediante ao seu plantio em locais contaminados. O método desenvolvido para determinação e análise de especiação das frações de antimônio apontou-se adequado para determinação deste

metal, apresentando bons limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão satisfatórias. Além de demonstrar ser um método muito eficaz devido a sua sensibilidade e seletividade.

Os valores de concentração encontrados nas amostras durante todas as análises deste trabalho foram sempre menores que os valores estabelecidos pela legislação, tendo em vista que o consumo diário deste metal não pode ultrapassar 2 mg/dia.

## REFERÊNCIA

ALBERTUS, F.; HORSTKOTTE, B.; CLADERA, A.; CERDA, V. A robust multisyringe system for process flow analysis - Part I. On-line dilution and single point titration of protolytes. **Analyst**, v. 124, p. 1372, 1999.

ALSIOUFI, L.; SANCHEZ DE LA CAMPA, A. M.; SANCHEZ-RODAS, D. Microwave extraction as an alternative to ultrasound probe for antimony speciation in airborne particulate matter. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 256–260, 2016.

APARECIDA, K.; TONANI, D. A.; NIKAIDO, M.; CARDOSO, O. D. O. Avaliação das concentrações de metais pesados em águas superficiais e sedimentos do Córrego Monte Alegre e afluentes , Ribeirão Preto , SP. **Ambi-Agua**, v. 5, n. 12, p. 122–132, 2010.

ARAUJO, R. G. O.; WELZ, B.; VIGNOLA, F.; BECKER-ROSS, H. Correction of structured molecular background by means of high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry—Determination of antimony in sediment reference materials using direct solid sampling. **Talanta**, v. 80, n. 2, p. 846–852, 15 dez. 2009.

ATKINS, P. ; L. J. **Química inorgânica**. 4<sup>o</sup> ed. p. 848. 2008

BOECK, M. De; KIRSCH-VOLDERS, M.; LISON, D. Cobalt and antimony : genotoxicity and carcinogenicity. v. 533, p. 135–152, 2003.

BORBOREMA, S. E. T.; OSSO JUNIOR, J. A.; DE ANDRADE JUNIOR, H. F.; DO NASCIMENTO, N. Biodistribution of meglumine antimoniate in healthy and Leishmania (Leishmania) infantum chagasi-infected BALB/c mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 5, p. 623–630, 2013.

BOSQUE-SENDRA, J. M.; NECHAR, M.; RODRIGUES, L. C.; MOLINA, M. F. Optimization of analytical methods by using Doehlert's design. **Analytical Proceeding Including Analytical Communications**, v. 32, p. 35, 1995.

BRAMAN, R. S.; JUSTEN, L. L.; FOREBACK, C. C. Direct volatilization-spectral emission type detection system for nanogram amounts of arsenic and antimony. **Analytical Chemistry**, v. 44, n. 13, p. 2195–2199, 1972.

BRIEGER H , SEMISCH CW , STASNEY J, P. D. . Industrial antimony poisoning. **Ind Med Surg.**, v. 23, p. 521, 1998.

BRIKI, M.; JI, H.; LI, C.; DING, H. Characterization , distribution , and risk assessment of heavy metals in agricultural soil and products around mining and smelting areas of Hezhang , China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, p. 766, 2015.

CABRAL, L. M.; JULIANO, V. N. M.; DIAS, L. R. S.; DORNELAS, C. B.; RODRIGUES, C. R.; VILLARDI, M.; CASTRO, H. C.; SANTOS, T. C. dos. Speciation of antimony (III) and antimony (V) using hydride generation for meglumine

antimoniate pharmaceutical formulations quality control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 2, p. 130–137, mar. 2008.

CALDAS, L. F. S.; DE PAULA, C. E. R.; BRUM, D. M.; CASSELLA, R. J. Application of a four-variables Doehlert design for the multivariate optimization of copper determination in petroleum-derived insulating oils by GFAAS employing the dilute-and-shot approach. **Fuel**, v. 105, p. 503–511, mar. 2013.

CERDÀ, V.; AMALIA, C. **An introduction to flow analysis**. SCIWARE, S 1<sup>o</sup> ed. 2009.

CERDÀ, V. C.; FERRER, L.; AVIVAR, J.; CERDÀ, A. **Flow analysis a practical guide**. 1<sup>o</sup> ed, 2010

CERQUEIRA, H. S.; PIMENTA, R. D. M.; BAUGIS, G. L.; TAN, M. H. **Avaliação da efetividade do antimônio para passivação de níquel nas refinarias da PETROBRÁS**. 2011.

CHEN, Y.; BELZILE, N. Analytica Chimica Acta High performance liquid chromatography coupled to atomic fluorescence spectrometry for the speciation of the hydride and chemical vapour-forming elements As, Se, Sb and Hg: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 671, n. 1–2, p. 9–26, 2010.

CHU, R. C.; BARRON, G. P.; BAUMGARTNER, P. a. W. Arsenic determination at submicrogram levels by arsine evolution and flameless atomic absorption spectrophotometric technique. **Analytical Chemistry**, v. 44, n. 8, p. 1476–1479, 1972.

COELHO, D. R.; MIRANDA, E. S.; SAINT'PIERRE, T. D.; ROMA PAUMGARTTEN, F. J. Tissue distribution of residual antimony in rats treated with multiple doses of meglumine antimoniate. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 4, p. 420–427, 2014.

CROFT, SL; YARDLEY, V. Chemotherapy of leishmaniasis. **CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN**, v. 8, n. 4, p. 319–342, 2002.

D'ULIVO, A.; LAMPUGNANI, L.; PELLEGRINI, G.; ZAMBONI, R. Determination of antimony by continuous hydride generation coupled with non-dispersive atomic fluorescence detection. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 10, n. 11, p. 969–974, 1995.

DA SILVA JBB; BEJARANO RO; DEMICHELI C; FREZARD F; DE MELO. Determination of antimony in mouse serum by electrothermal AAS using zirconium plus rhodium as permanent modifier. **ATOMIC SPECTROSCOPY**, v. 27, p. 93–97, 2006.

DE JESUS, A.; DESSUY, M. B.; HUBER, C. S.; ZMOZINSKI, A. V.; DUARTE, Á. T.; VALE, M. G. R.; ANDRADE, J. B. Determination of antimony in pet containers by direct analysis of solid samples using graphite furnace atomic absorption spectrometry and leaching studies. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 222–227, jan. 2016.

DENYS, S.; TACK, K.; CABOCHE, J.; DELALAIN, P. Chemosphere Bioaccessibility , solid phase distribution , and speciation of Sb in soils and in digestive fluids. **Chemosphere**, v. 74, n. 5, p. 711–716, 2008.

DESSUY, M. B.; DE JESUS, R. M.; BRANDAO, G. C.; FERREIRA, S. L. C.; VALE, M. G. R.; WELZ, B. Fast sequential determination of antimony and lead in pewter alloys using high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 30, n. 1, p. 202–207, jan. 2013.

DESSUY, M. B.; KRATZER, J.; VALE, M. G. R.; WELZ, B.; DĚDINA, J. Hydride generation in-atomizer collection atomic absorption spectrometry for the determination of antimony in acetic acid leachates from pewter cups. **Talanta**, v. 87, p. 255–261, dez. 2011.

DOS SANTOS, É. J.; HERRMANN, A. B.; PRADO, S. K.; FANTIN, E. B.; DOS SANTOS, V. W.; DE OLIVEIRA, A. V. M.; CURTIUS, A. J. Determination of toxic elements in glass beads used for pavement marking by ICP OES. **Microchemical Journal**, v. 108, p. 233–238, 2013.

DOS SANTOS, V. C. G.; GRASSI, M. T.; ABATE, G. Speciation of Antimony(III) and Antimony(V) in Bottled Water by Hydride Generation-Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 48, n. 18, p. 2921–2935, 12 dez. 2015.

DUARTE, A. T.; DESSUY, M. B.; VALE, M. G. R.; WELZ, B. Determination of chromium and antimony in polymers from electrical and electronic equipment using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Methods**, v. 5, n. 24, p. 6941, 2013.

FERREIRA, S. L. C. **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**. 1. ed. 2015

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; DA SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. a; DOS REIS, P. S.; SOUZA, a S.; DOS SANTOS, W. N. L. Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica chimica acta**, v. 597, n. 2, p. 179–86, 6 ago. 2007.

FERREIRA, S. L. C.; MACEDO, S. M.; SANTOS, C.; JESUS, R. M. De; SANTOS, W. N. L.; QUEIROZ, F. D. S.; ANDRADE, J. B. De. Speciation analysis of inorganic antimony in airborne particulate matter employing slurry sampling and HG QT AAS. n. v, p. 1887–1891, 2011.

FILLELA, M.; BELZILE, N.; CHEN, Y.-W. Antimony in the environment:\na review focused on natural waters. I. Occurrence. **Earth Science Reviews**, v. 57, p. 125–176, 2002.

Front Matter. In: **Handbook of Elemental Speciation II - Species in the Environment, Food, Medicine and Occupational Health**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2005.

FUJIWARA, F.; REBAGLIATI, R. J.; MARRERO, J.; GOMEZ, D.; SMICHOWSKI, P.

Antimony as a traffic-related element in size-fractionated road dust samples collected in Buenos Aires. **Microchemical Journal**, v. 97, n. 1, p. 62–67, 2011.

GALLIGNANI, M.; BRUNETTO, M. del R.; OVALLES, F. Flow analysis-hydride generation-gas phase derivative molecular absorption spectrophotometric determination of antimony in antileishmanial drugs. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 337–342, 2009.

GAO, Y.; STURGEON, R. E.; MESTER, Z.; HOU, X.; ZHENG, C.; YANG, L. Direct Determination of Trace Antimony in Natural Waters by Photochemical Vapor Generation ICPMS: Method Optimization and Comparison of Quantitation Strategies. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 15, p. 7996–8004, 2015.

GARBOS S.; E., B.; A., H. Determination of antimony(III) by flame AAS after microcolumn preconcentration on DETA sorbent. **ATOMIC SPECTROSCOPY**, v. 21, n. 4, p. 128, 2000.

GEBEL, T. Arsenic and antimony : comparative approach on mechanistic toxicology. v. 107, p. 131–144, 1997.

GEBEL T, CLAUSSEN K, D. H. Human biomonitoring of antimony. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 71, p. 221–224, 1998.

GEOLOGICAL SURVEY, U. . **MINERAL COMMODITY SUMMARIES 2015**. Disponível em: <<http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/mcs/2015/mcs2015.pdf>>.

GOMEZ, D.R.; GINE, M.F.; BELLATO, A.C.S.; SMICHOWSKI, P. Antimony: a traffic-related element in the atmosphere of Buenos Aires, Argentina. **JOURNAL OF ENVIRONMENTAL MONITORING**, v. 7, p. 1162, 2005.

GRASSELLI, R. K. Advances and future trends in selective oxidation and ammoxidation catalysis. **Catalysis Today**, v. 49, n. 1–3, p. 141–153, fev. 1999.

GREDA, K.; JAMROZ, P.; JEDRYCZKO, D.; POHL, P. On the coupling of hydride generation with atmospheric pressure glow discharge in contact with the flowing liquid cathode for the determination of arsenic, antimony and selenium with optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 137, p. 11–17, maio 2015.

GROSS P , WESTRICK ML , BROWN JH , RP SRSIC , SCHRENK HH, H. T. . estudo toxicológico de fósforos halofosfato de cálcio e trióxido de antimônio. II. estudos pulmonares. **AMA Arch Ind Saúde**, v. 11, p. 479, 2001.

HADJIKAKOU, S. K.; OZTURK, I. I.; BANTI, C. N.; KOURKOUHELIS, N. ;HADJILIADIS, N. Recent advances on antimony(III/V) compounds with potential activity against tumor cells. **JOURNAL OF INORGANIC BIOCHEMISTRY**, v. 153, p. 293–305, 2015.

HADJIKAKOU, S. K.; OZTURK, I. I.; BANTI, C. N.; KOURKOUHELIS, N.; HADJILIADIS, N. Recent advances on antimony(III/V) compounds with potential activity against tumor cells. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 153, p. 293–305, 2015.

HAESE, P. C. D.; LANDEGHEM, G. F. Van; LAMBERTS, L. V; BROE, E. De. Mikrochimica Acta HPLC-AAS Hybrid Technique for Studying the Speciation of Trace Metals ( Al , Fe , Si , Hg ) in Biological Fluids : A Review of Applications , Recent Experiences and Perspectives. v. 90, p. 83–90, 1995.

HE, M.; YANG, J. Effects of different forms of antimony on rice during the period of germination and growth and antimony concentration in rice tissue. **Science of the Total Environment**, v. 243–244, p. 149–155, 1999.

HOLAK, W. Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry. **Analytical chemistry**, v. 41, p. 1712–1713, 1969.

IJIMA, A.; SATO, F. K.; FUJITANI, C. Y.; FUJIMORI, D. E.; SAITO, E. Y.; TANABE, K.; OHARA, D. T.; A, D. K. K.; B, N. F. Clarification of the predominant emission sources of antimony in airborne particulate matter and estimation of their effects on the atmosphere in Japan. **Environmental Chemistry**. p. 122–132, 2009.

JOOSTE, A.; MARR, S.; ADDO-BEDIAKO, A.; LUUS-POWELL, W. Metal bioaccumulation in the fish of the Olifants River, Limpopo province, South Africa, and the associated human health risk: a case study of rednose labeo *Labeo rosae* from two impoundments. **African Journal of Aquatic Science**, v. 39, n. 3, p. 271–277, 3 jul. 2014.

JUNG, M. C.; THORNTON, I.; CHON, H. T. Arsenic, Sb and Bi contamination of soils, plants, waters and sediments in the vicinity of the Dalsung Cu-W mine in Korea. **Science of the Total Environment**, v. 295, n. 1–3, p. 81–89, 2002.

JUNIOR, M. M. S.; LEO, D. J.; MOREIRA, Í. T. A.; DE OLIVEIRA, O. M. C.; DE SOUZA QUEIROZ, A. F.; FERREIRA, S. L. C. Speciation analysis of inorganic antimony in sediment samples from São Paulo Estuary, Bahia State, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 11, p. 8386–8391, 25 jun. 2015.

KLEIN, Z.; DUTROW, Z. **Manual de ciência dos minerais**. 23. ed. 2014

KOZAK, L.; NIEDZIELSKI, P. The idea of simultaneous batch in-situ extraction and arsenic and antimony hydride generation atomic absorption spectrometry determination directly in the solid (tsunami and lake sediments) samples. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 92, n. 9, p. 1093–1105, 2012.

KRACHLER, M.; EMONS, H. Speciation analysis of antimony by high-performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry using ultrasonic nebulization. **Analytica Chimica Acta**, v. 429, n. 1, p. 125–133, 2001.

KRACHLER, M.; EMONS, H.; ZHENG, J. Speciation of antimony for the 21st century : promises and pitfalls. v. 20, n. 2, p. 79–90, 2001.

KRACHLER M; ZHENG J; KOERNER R; ZDANOWICZ C; FISHER D; SHOTYK W. Increasing atmospheric antimony contamination in the northern hemisphere: snow and ice evidence from Devon Island, Arctic Canada. **JOURNAL OF ENVIRONMENTAL MONITORING**, v. 7, n. 12, p. 1169, 2005.

KUPERMAN, RG; CHECKAI, RT; SIMINI, M; PHILLIPS, CI; SPEICHER, JA; BARCLIFT, D. Toxicity benchmarks for antimony, barium, and beryllium determined using reproduction endpoints for *Folsomia candida*, *Eisenia fetida*, and *Enchytraeus crypticus*. **ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND CHEMISTRY**, v. 25, p. 754, 2006.

LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 5<sup>o</sup> ed. 2011

LÉONARD A, G. G. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of antimony compounds. **MUTATION RESEARCH-REVIEWS IN GENETIC TOXICOLOGY**, v. 366, p. 1–8, 1996.

LHASSAN, A.M.; MEREDITH, S.E.O.; YAGI, H.I.; KHALIL, E.A.G.; GHALIB, H.W.; ABBAS, K.; ZIJLSTRA, E.E; KROON, C.C.M.; SCHOONE, G.J.; ISMAIL, A. Sudanese mucosal leishmaniasis: epidemiology, clinical features, diagnosis, immune responses and treatment. **TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE**, v. 89, p. 647, 1995.

LIU, B.; WU, F.; LI, X.; FU, Z.; DENG, Q.; MO, C.; ZHU, J. Arsenic, antimony and bismuth in human hair from potentially exposed individuals in the vicinity of antimony mines in Southwest China. **Microchemical Journal**, v. 97, n. 1, p. 20–24, 2011.

MANTA, D. S.; ANGELONE, M.; BELLANCA, A.; NERI, R.; SPROVIERI, M. Heavy metals in urban soils: a case study from the city of Palermo (Sicily), Italy. **The Science of the Total Environment**, v. 300, p. 229–243, 2002.

MARGUI, E.; SAGUÉ, M.; QUERALT, I.; HIDALGO, M. Liquid phase microextraction strategies combined with total reflection X-ray spectrometry for the determination of low amounts of inorganic antimony species in waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 786, p. 8–15, 2013.

MIRAVET, R.; HERNÁNDEZ-NATAREN, E.; SAHUQUILLO, A.; RUBIO, R.; LÓPEZ-SÁNCHEZ, J. F. Speciation of antimony in environmental matrices by coupled techniques. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 1, p. 28–39, jan. 2010.

NAKAHARA, T. HYDRIDE GENERATION TECHNIQUES AND THEIR APPLICATIONS IN INDUCTIVELY COUPLED PLASMA-ATOMIC EMISSION-SPECTROMETRY. **SPECTROCHIMICA ACTA REVIEWS**, v. 14, p. 95–109, 1991.

NEAL, C.; WILLIAMS, R. J.; NEAL, M.; BHARDWAJ, L. C.; WICKHAM, H.; HARROW, M.; HILL, L. K. The water quality of the River Thames at a rural site downstream of Oxford. **Science of the Total Environment**, v. 251–252, p. 441–457, 2000.

NUNES, J. L. C.; AVANZI, J. C.; SILVA, M. L. N.; MELLO, C. R. de; CERRI, C. E. P. POTENCIAL DE SEQUESTRO DE CARBONO EM DIFERENTES BIOMAS DO BRASIL. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 1, p. 277–289, 2010.

OLIVARES, D.; BRAVO, M.; FELDMANN, J.; RAAB, A.; NEAMAN, A.; QUIROZ, W. Development of an Analytical Method for Antimony Speciation in Vegetables by HPLC-Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry. **Journal of AOAC International**, v. 95, n. 4, p. 1176–1182, 1 jul. 2012.



OYMAK, T.; TOKALIOĞLU, Ş.; YILMAZ, V.; KARTAL, Ş.; AYDIN, D. Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1314–1317, abr. 2009.

PATRIARCA, M.; MENDITTO, A.; ROSSI, B.; LYON, T. D. B.; FELL, G. S. Environmental exposure to metals of newborns, infants and young children. p. 351–361, 2000.

PORTUGAL, L. a.; FERRER, L.; SERRA, A. M.; GONÇALVES DA SILVA, D.; FERREIRA, S. L. C.; CERDÀ, V. A non-chromatographic automated system for antimony speciation in natural water exploiting multisyringe flow injection analysis coupled with online hydride generation – atomic fluorescence spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, p. 1133–1141, 2015.

POTKONJAK V, P. M. . Antimoniosis: uma forma particular de pneumoconiose. I. Etiologia, achados clínicos e de raio-X. **Int Arch Occup Environ Health.**, v. 51, p. 199–207, 1983.

PRATAS, J.; PRASAD, M. N. V; FREITAS, H.; CONDE, L. Plants growing in abandoned mines of Portugal are useful for biogeochemical exploration of arsenic, antimony, tungsten and mine reclamation. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 85, n. 3, p. 99–107, 2005.

QI, C.; WU, F.; DENG, Q.; LIU, G.; MO, C.; LIU, B.; ZHU, J. Distribution and accumulation of antimony in plants in the super-large Sb deposit areas, China. **Microchemical Journal**, v. 97, n. 1, p. 44–51, 2011.

QUIROZ, W.; OLIVARES, D.; BRAVO, M.; FELDMANN, J.; RAAB, A. Antimony speciation in soils: Improving the detection limits using post-column pre-reduction hydride generation atomic fluorescence spectroscopy (HPLC/pre-reduction/HG-AFS). **Talanta**, v. 84, n. 2, p. 593–598, abr. 2011.

REN, J.-L.; ZHANG, X.-Z.; SUN, Y.-X.; LIU, S.-M.; HUANG, D.; ZHANG, J. Antimony and arsenic biogeochemistry in the East China Sea. **Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography**, v. 124, p. 29–42, 2015.

ROMÃO, W.; SPINACÉ, M. A. S.; PAOLI, M.-A. De. Poli(tereftalato de etileno), PET: uma revisão sobre os processos de síntese, mecanismos de degradação e sua reciclagem. **Polímeros**, v. 19, n. 2, jun. 2009.

RUZICKA, J. Lab-on-valve: universal microflow analyzer based on sequential and bead injection. **Analyst**, v. 125, p. 1053, 2000.

SAHA, S.; MONDAL, S.; RAVINDRAN, R.; BHOWMICK, S.; MODAK, D.; MALLICK, S.; RAHMAN, M.; KAR, S.; GOSWAMI, R.; GUHA, S. K.; PRAMANIK, N.; SAHA, B.; ALI, N.; J. IL-10- and TGF- $\beta$  -Mediated Susceptibility in Kala-azar and Post-kala-azar Dermal Leishmaniasis: The Significance of Amphotericin B in the Control of Leishmania donovani Infection in India. **The Journal of Immunology**, v. 21, 2016.

SARACOGLU, S.; SOYLAK, M.; DOGAN, M.; ELCI, L. Speciation of antimony using chromosorb 102 resin as a retention medium. **Analytical sciences : the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry**, v. 19, n. 2, p.

259–264, 2003.

SHAKED-MISHAN, P.; ULRICH, N.; EPHROS, M.; ZILBERSTEIN, D. Novel Intracellular Sb V Reducing Activity Correlates with Antimony Susceptibility in *Leishmania donovani* \*. v. 276, n. 6, p. 3971–3976, 2001.

SHALTOUT, A. A.; WELZ, B.; CASTILHO, I. N. B. Determinations of Sb and Mo in Cairo's dust using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. **Atmospheric Environment**, v. 81, p. 18–24, dez. 2013.

SHOTYK, W.; CHEBURKIN, A. K.; APPLEBY, P. G.; FANKHAUSER, A.; KRAMERS, J. D. Two thousand years of atmospheric arsenic, antimony, and lead deposition recorded in an ombrotrophic peat bog profile, Jura Mountains, Switzerland. **Earth and Planetary Science Letters** v. 145, 1996.

SHRIVAS, K.; AGRAWAL, K.; HARMUKH, N. On-site spectrophotometric determination of antimony in water, soil and dust samples of Central India. v. 155, p. 173–178, 2008.

SILVA, L. O. B.; LEO, D. J.; DOS SANTOS, D. C.; MATOS, G. D.; DE ANDRADE, J. B.; FERREIRA, S. L. C. Determination of copper in airborne particulate matter using slurry sampling and chemical vapor generation atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 127, p. 140–145, 2014a.

SILVA, M. M.; LEO, D. J.; MOREIRA, I. T. A.; DE OLIVEIRA, O. M. C.; DE SOUZA QUEIROZ, A. F.; FERREIRA, S. L. C. Speciation analysis of inorganic antimony in sediment samples from São Paulo Estuary, Bahia State, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 11, p. 8386–8391, 2014b.

SKYLLBERG, U.; BLOOM, P. R.; QIAN, J.; LIN, C.-M.; BLEAM, W. F. Complexation of Mercury(II) in Soil Organic Matter: EXAFS Evidence for Linear Two-Coordination with Reduced Sulfur Groups. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 13, p. 4174–4180, jul. 2006..

SMICHOWSKI, P.; MADRID, Y. Analytical methods for antimony speciation in waters at trace and ultratrace levels. A review. p. 623–629, 1998.

SODRÉ, F. F.; ANTONIO, M.; LOCATELLI, F.; JARDIM, W. F. SISTEMA LIMPO EM LINHA PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUAS NATURAIS. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 216–219, 2010.

SOUZA, O.; MARIA, J.; TARLEY, C.; TEIXEIRA, R. Preconcentration and Speciation of Sb(III) and Sb(V) in Water Samples and Blood Serum after Cloud Point Extraction Using Chemometric Tools for Optimization. **Analytical Letters**, v. 41, n. 13, p. 2465–2486, 27 out. 2008.

STEEN, E. V.; KUWERT, G.; WILLAMS, M. Influence of antimony content in the iron antimony oxide catalyst and reaction conditions on the (Amm)Oxidation of propene and propane. **Studies in Surface Science and Catalysis**, v. 110, 1997.

SUN, H.; SUO, R.; LU, Y. Determination of zinc in food using atomic fluorescence spectrometry by hydride generation from organized media. **Analytica Chimica Acta**, v. 457, n. 2, p. 305–310, 2002.

TARLEY, C. R. T.; SILVEIRA, G.; DOS SANTOS, W. N. L.; MATOS, G. D.; DA SILVA, E. G. P.; BEZERRA, M. A.; MIRÓ, M.; FERREIRA, S. L. C. Chemometric tools in electroanalytical chemistry: Methods for optimization based on factorial design and response surface methodology. **Microchemical Journal**, v. 92, n. 1, p. 58–67, maio 2009.

TEÓFILO, R. F. QUIMIOMETRIA II: PLANILHAS ELETRÔNICAS PARA CÁLCULOS DE PLANEJAMENTOS EXPERIMENTAIS, UM TUTORIAL Reinaldo F. Teófilo e Márcia M. C. Ferreira\*. v. 29, n. 2, p. 338–350, 2006.

THANABALASINGAM, P.; PICKERING, W. F. Specific sorption of antimony(III) by the hydrous oxides of manganese, iron, and aluminum. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 49, n. 1–2, p. 175–185, 1990.

THOMASSEN Y.; NIEBOER E.; ELLINGSEN D.; HETLAND S; NORSETH T; ODLAND; ROMANOVA N.; N. CHEMOVA C.; TCHACHTCHINE V. P. Characterisation of workers' exposure in a Russian nickel refinery. **JOURNAL OF ENVIRONMENTAL MONITORING**, v. 1, p. 15–22, 1999.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.

TOKALIOĞLU, Ş. Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis. **Food chemistry**, v. 134, n. 4, p. 2504–8, 15 out. 2012.

ULUSOY, H. İ.; AKSOY, Ü.; AKÇAY, M. Simultaneous pre-concentration of Pb and Sn in food samples and determination by atomic absorption spectrometry. **European Food Research and Technology**, v. 236, n. 4, p. 725–733, 5 mar. 2013.

ÜNAL YEŞİLLER, S.; YALÇIN, Ş. Optimization of chemical and instrumental parameters in hydride generation laser-induced breakdown spectrometry for the determination of arsenic, antimony, lead and germanium in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 770, p. 7–17, abr. 2013.

VAN VLEEK, B.; AMARASIRIWARDENA, D.; XING, B. Investigation of distribution of soil antimony using sequential extraction and antimony complexed to soil-derived humic acids molar mass fractions extracted from various depths in a shooting range soil. **Microchemical Journal**, v. 97, n. 1, p. 68–73, jan. 2011.

WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; POHL, P. Optimization of Sample Preparation of Carrot-Fruit Juice for Determination of Antimony, Arsenic, and Selenium by Hydride Generation-Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 47, n. 12, p. 2104–2119, 13 ago. 2014.

WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U. **High-resolution continuum source aas**. Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA,

2005.

WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; VALE, M. G. R. High-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry - What can we expect? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 220–229, 2003.

WELZ, B.; HEITMANN, U. Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. n. 1, 2005.

WILSON, S. C.; LOCKWOOD, P. V.; ASHLEY, P. M.; TIGHE, M. The chemistry and behaviour of antimony in the soil environment with comparisons to arsenic: A critical review. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 5, p. 1169–1181, 2010.

YANG, H.; HE, M. Speciation of Antimony in Soils and Sediments by Liquid Chromatography–Hydride Generation–Atomic Fluorescence Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 48, n. 12, p. 1941–1953, 13 ago. 2015.

YAYLAL, G. Determination of anomalies associated with Sb mineralization in soil geochemistry : A case study in Turhal ( northern Turkey ). **Journal of Geochemical Exploration**, v. 132, p. 63–74, 2013.

YE, Y.; SANG, J.; MA, H.; TAO, G. Determination of antimony in environment samples by gas phase chemiluminescence detection following flow injection hydride generation and cryotrapping. **Talanta**, v. 81, n. 4–5, p. 1502–1507, 15 jun. 2010.