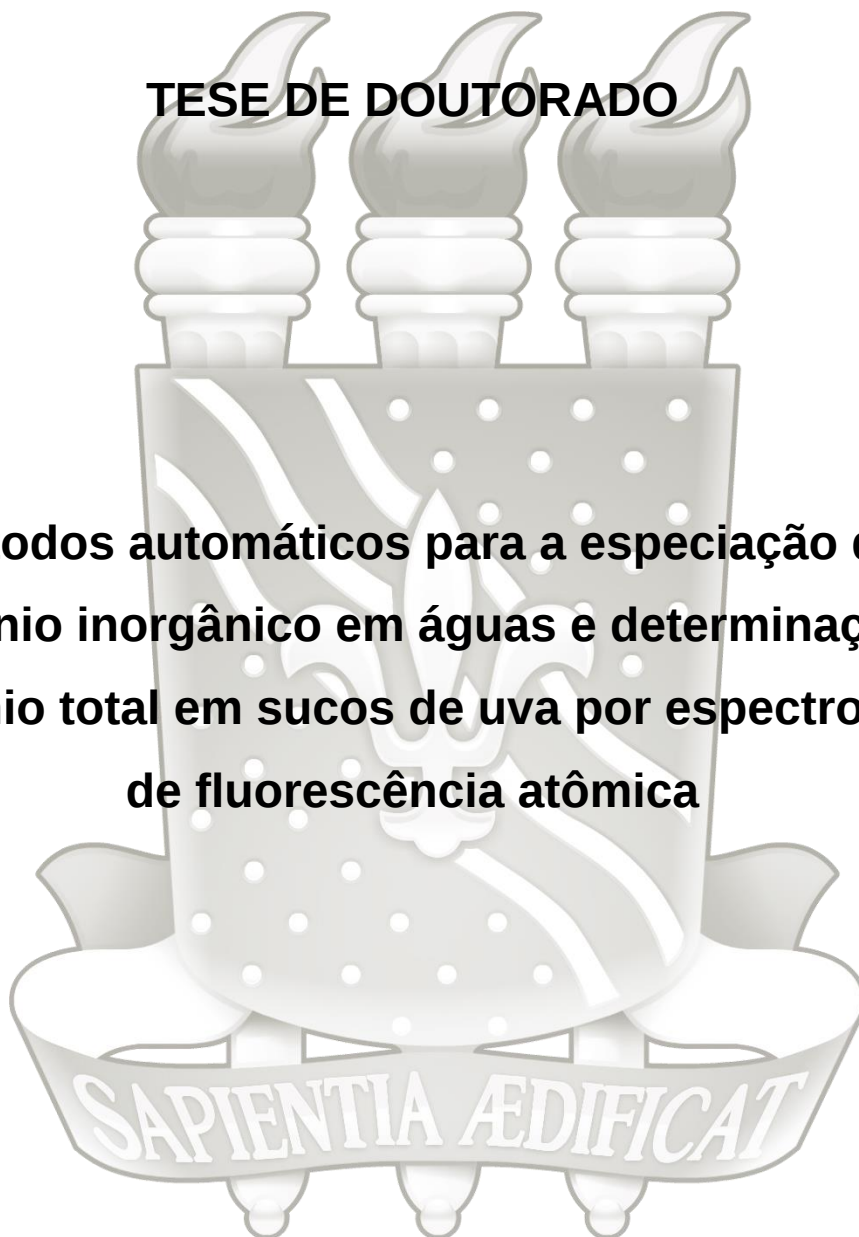




UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

**Métodos automáticos para a especiação de
antimônio inorgânico em águas e determinação de
antimônio total em sucos de uva por espectrometria
de fluorescência atômica**



Eduardo Antonio de Lima

João Pessoa – PB - Brasil

Agosto de 2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



TESE DE DOUTORADO

Métodos automáticos para a especiação de antimônio inorgânico em águas e determinação de antimônio total em sucos de uva por espectrometria de fluorescência atômica

Eduardo Antonio de Lima *

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

Orientador: Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida

* Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES

João Pessoa – PB – Brasil
Agosto de 2019

L732m Lima, Eduardo Antonio de.

Métodos automáticos para a especiação de antimônio inorgânico em águas e determinação de antimônio total em sucos de uva por espectrometria de fluorescência atômica / Eduardo Antonio de Lima. - João Pessoa, 2019. 124f. : il.

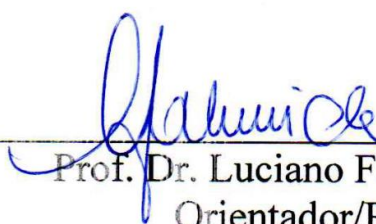
Orientação: Luciano Farias de Almeida.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCEN.

1. metal tóxico. 2. análise em fluxo-batelada. 3. geração de hidretos. 4. planejamento Box-Behnken. 5. análise de águas. 6. análise de suco de uva. I. de Almeida, Luciano Farias. II. Título.

UFPB/BC

Métodos automáticos para a especiação de antimônio inorgânico em águas e determinação de antimônio total em sucos de uva por espectrometria de fluorescência atômica.

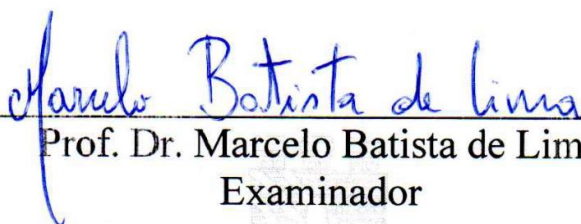
Tese de Doutorado apresentada pelo doutorando Eduardo Antonio de Lima e aprovada pela banca examinadora em 28 de agosto de 2019.



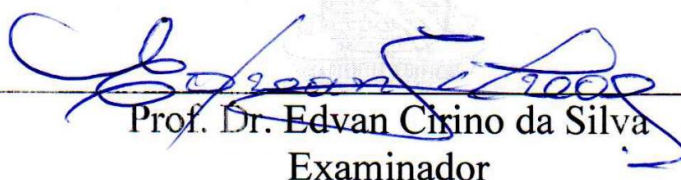
Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida
Orientador/Presidente



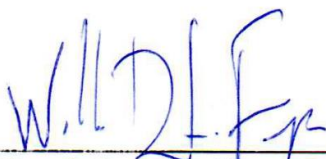
Prof. Dr. Edvaldo da Nóbrega Gaião
Examinador



Prof. Dr. Marcelo Batista de Lima
Examinador



Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva
Examinador



Prof. Dr. Wallace Duarte Fragoso
Examinador

DEDICATÓRIA

À minha mãe Edilsa Lima,
Meu filho Davi Eduardo,
Minha companheira Karla Figueiredo,
A minha tia Naurita Santana (In memorian),
A meu tio José Inário Guará,
e a meus irmãos Diogo, Elaine e Rodrigo.

É necessário fazer outras perguntas, ir atrás das indagações que produzem o novo saber, observar com outros olhares através da história pessoal e coletiva, evitando a empáfia daqueles e daquelas que supõem já estar de posse do conhecimento e da certeza.

Mario Sergio Cortella

AGRADECIMENTOS

- A Deus por tudo.
- A minha mãe Edilsa Ferreira de Lima, a companheira de todas as horas Karla Figueiredo e ao meu filho amado Davi Eduardo por todo amor, companheirismo, incentivo e carinho nessa longa caminhada.
- Ao professor Dr. Luciano Farias de Almeida pela valiosa orientação, ensinamentos, encaminhamento dos artigos e ajuda durante toda a minha trajetória acadêmica.
- Ao Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo pelas orientações, encaminhamento do artigo e por ceder gentilmente as instalações do LAQA.
- Ao Dr. Francisco Antonio da Silva Cunha pela viabilização de laboratório na UFAL, auxílio no experimental e valiosas discussões acadêmicas.
- Ao professor Dr. Josué Carinhanha da UFAL por ceder gentilmente as instalações do LINQA, revisão do artigo e pelas contribuições durante o experimental.
- Ao Prof. Dr. Sérgio Costa da UFBA pelas contribuições para o artigo base desta tese.
- Ao Dr. Welligton Silva Lyra pelas excelentes contribuições na parte experimental e na escrita do artigo.
- Ao Dr. Sófocles Figueredo por todo auxílio nas interpretações dos planejamentos experimentais e nas análises estatísticas deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva e a Profa. Dra. Kátia Messias Bichinho pelos encaminhamentos intelectuais durante a banca de Qualificação do Doutorado.
- Aos membros do grupo de instrumentação.
- Aos amigos e companheiros do cotidiano Cleibson Lima e Lais Chantele.
- Aos Companheiros do LAQA Ivson Nino (Barbosa), Dayvson Ribeiro, Flaviano, Pedro, Julys, Helton e Willy Castro.
- Ao programa de pós graduação em química da UFPB.
- À capes pela bolsa concedida.
- A todos os demais membros do LAQA.

Sumário

DEDICATÓRIA	5
AGRADECIMENTOS	vii
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xv
RESUMO	xviii
ABSTRACT.....	xix
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Justificativa e caracterização da problemática	2
1.2 OBJETIVOS.....	5
1.2.1 Objetivo geral.....	5
1.2.2 Objetivos específicos	5
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	6
2.1 O Antimônio	6
2.1.1 Generalidades e propriedades físico-químicas	6
2.1.2 Presença em sistemas ambientais.....	7
2.1.3 Aplicações industriais	9
2.1.4 Ocorrência em águas e em sucos de uva	11
2.1.5 Toxicidade e efeitos da exposição ao antimônio	14
2.1.6 Preparo de amostra de sucos para a determinação de antimônio total	15
2.1.7 Especificação de antimônio inorgânico em água	19
2.2 Técnicas analíticas para a determinação de antimônio	20
2.2.1 A geração de hidretos na determinação de antimônio	21
2.2.2 Espectrometria de fluorescência atômica.....	23

2.3	Planejamento experimental.....	26
2.3.1	Avaliação dos fatores.....	27
2.3.2	Planejamento Box-Behnken.....	28
2.4	Considerações sobre sistemas automáticos de análise química.....	30
2.4.1	Sistemas automáticos em fluxo-batelada.....	33
2.4.2	Sistemas automáticos para determinação de antimônio	36
3	DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO AUTOMÁTICO FLUXO BATELADA PARA ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO INORGÂNICO EM ÁGUAS.....	39
3.1	Experimental.....	40
3.1.1	Reagentes, soluções e amostras.....	40
3.1.2	Desenvolvimento do sistema automático	41
3.1.3	Procedimento automático	46
3.1.4	Avaliação do desempenho analítico.....	48
3.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
3.2.1	Precisão das válvulas solenoides empregadas.....	52
3.2.2	Otimização do método FBA-HG-AFS.....	53
3.2.3	Validação da curva analítica e parâmetros de desempenho	58
3.2.4	Especiação de antimônio inorgânico em águas	60
3.2.5	Comparação com outros métodos automáticos	61
4	UMA ESTRATÉGIA ANALÍTICA AUTOMÁTICA PARA DETERMINAÇÃO DIRETA DE ANTIMÔNIO TOTAL EM AMOSTRAS DE SUCO DE UVA	64
4.1	EXPERIMENTAL	65
4.1.1	Reagentes, soluções e amostras.....	65
4.1.2	Instrumentação e sistema automático.....	65
4.1.3	Mineralização por via seca para determinação de antimônio total em suco de uva.....	66

4.1.4	Procedimento automático	66
4.1.5	Avaliação do desempenho analítico.....	67
4.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
4.2.1	Extração de antimônio total em amostras de suco de uva	68
4.2.2	Parâmetros de desempenho e validação da curva analítica	73
4.2.3	Análise das amostras.....	74
4.2.4	Testes de recuperação e características do sistema automático FBA-HG-AFS na determinação em amostras de suco de uva	75
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
5.1	CONCLUSÕES.....	78
5.2	PERSPECTIVAS.....	80
	REFERÊNCIAS	81
	ANEXO	102

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Ilustração do sistema de detecção do instrumento AFS. (a) lâmpada de cátodo oco, (b) atomizador, (c) chama de difusão argônio-hidrogênio e (d) fotomultiplicadora. (Adaptado) [15].....	25
Figura 2 Representação gráfica dos pontos experimentais de um planejamento Box-Behnken: (a) ponto no cubo, (b) pontos em cartesiano.	29
Figura 3 Linha do tempo para os principais analisadores automáticos em fluxo desenvolvidos.	32
Figura 4 Configuração geral de um sistema de análise em fluxo simples. (a) exemplos de sistemas para propulsão dos fluidos, (b) exemplos de sistemas de injeção, (c) exemplos de sistemas de mistura e (d) exemplos de detectores.....	33
Figura 5 Esquema simplificado com os componentes principais de um sistema fluxo batelada. (a) câmara de mistura; (b) agitador magnético; (c) válvulas solenoides de três vias; (d) bomba peristáltica; (e) acionador de válvulas; (f) detector; (g) computador.	34
Figura 6 Diagrama esquemático da ligação entre o notebook, a interface NI USB-6009 e o acionador de válvulas.....	42
Figura 7 Fotografia representativa do sistema em fluxo-batelada desenvolvido. (a) Notebook; (b) bomba peristáltica; (c) acionador de válvulas; (d) rotâmetro; (e) interface USB; (f) agitador magnético; (g) válvulas solenoides; (h) câmara de mistura; (i) AFS.	43
Figura 8 Interface de controle do sistema automático fluxo-batelada desenvolvido.	44
Figura 9 Interface do programa para realizar o estudo de calibração das válvulas solenoides.....	46
Figura 10 Diagrama esquemático do sistema fluxo-batelada desenvolvido para determinação e especiação de antimônio inorgânico em águas.	47
Figura 11 Diagrama de tempo do procedimento analítico automático.	48
Figura 12 Gráfico de Pareto do planejamento fatorial completo de dois níveis. Fator 1 = concentração do NaBH_4 ; fator 2 = concentração de HCl ; fator 3 = vazão do argônio.	55
Figura 13 Superfícies de respostas obtidas pela matriz Box-Behnken.	58
Figura 14 Curva analítica para determinação de Sb(III) em amostras de águas.	59

Figura 15 Diagrama de tempo do procedimento analítico automático para determinação de Sb total em amostras de suco de uva.	67
Figura 16 Influência da extração ácida na determinação direta de antimônio em amostra de suco de uva em 5 segundos de homogeneização. A porcentagem de recuperação foi comparada com a determinação de Sb total após a mineralização da amostra em forno mufla ($4,0 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$).	69
Figura 17 Avaliação do tempo para extração de antimônio total empregando HCl 6 mol L^{-1}	70
Figura 18 Superfícies de respostas obtidas do planejamento Box-Behnken para otimização da determinação direta de Sb em amostras de sucos de uva.	72
Figura 19 Curva analítica para determinação de Sb total em amostras de suco de uva.	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Características físico-químicas do antimônio.....	6
Tabela 2 Energias de ionização do Sb.....	7
Tabela 3 Espécies químicas de antimônio encontradas sistemas ambientais. Adaptada de WILSON et al.[35] e VIEIRA [36].....	9
Tabela 4 Produção anual de antimônio.....	10
Tabela 5 Valores máximos de concentrações.....	12
Tabela 6 Determinação de Sb em sucos.....	18
Tabela 7 Exemplo de matriz de planejamento fatorial completo (2^3).....	28
Tabela 8 Matriz de planejamento Box-Behnken para três fatores.....	30
Tabela 9 Sistemas automático para determinação de Sb encontrados entre 2001 e 2017.....	37
Tabela 10 Parâmetros operacionais para o espectrômetro de fluorescência atômica.	43
Tabela 11 Equações para ANOVA aplicada a um modelo obtido pelo método dos mínimos quadrados [195].....	50
Tabela 12 Vazões médias observadas para cada válvula do sistema proposto (n=20).	53
Tabela 13 Fatores, níveis e a matriz de planejamento fatorial completo de dois níveis (2^3).....	54
Tabela 14 Planejamento Box–Behnken para otimizar o método FBA–HG–AFS para determinação e especiação de Sb.....	56
Tabela 15 Resultados da ANOVA para o modelo quadrático ajustado a partir dos dados do planejamento Box-Behnken.....	57
Tabela 16 Análise de variância (ANOVA) para o modelo linear obtido pelo método proposto.....	60
Tabela 17 Especiação de antimônio inorgânico em águas (n = 3).....	61
Tabela 18 Características analíticas do método proposto e de outros métodos em fluxo usando a técnica HG para especiação de antimônio inorgânico em águas.....	63

Tabela 19 Planejamento Box–Behnken para otimizar o método FBA–HG–AFS para determinação de Sb total em amostras de suco de uva.	71
Tabela 20 Determinação de antimônio total em amostras de suco de uva ($\mu\text{g L}^{-1}$) usando o sistema automático FBA-HG-AFS e o método de referência por geração de hidretos e detecção por fluorescência atômica.....	75
Tabela 21 Teste de recuperação para as amostras de suco de uva.	75

LISTA DE ABREVIATURAS

- AAS** Espectrometria de absorção atômica, do inglês *atomic absorption spectrometry*;
- AFS** Espectrometria de fluorescência atômica, do inglês *atomic fluorescence spectrometry*;
- AM** Agitador magnético;
- ANOVA** Análise de variância, do inglês *analysis of variance*;
- APDC** Ditiocarbamato de pirrolidina de amônio, do inglês *ammonium pyrrolidine dithiocarbamate*;
- ASV** Voltametria de redissolução anódica, do inglês *anodic stripping voltammetry*;
- BDHCLs** Lâmpadas de cátodo a frio de descarga impulsada, do inglês *Boosted Discharge Hollow Cathode Lamps*;
- BP** Bomba peristáltica;
- CCD** Experimentos centrais compostos, do inglês *composite central design*;
- CE** Eletroforese capilar, do inglês *capillary electrophoresis*;
- CFA** Análise de fluxo contínuo, do inglês *continuous flow analysis*;
- CONAMA** Conselho Nacional do Meio Ambiente;
- CPE** Extração em ponto nuvem, do inglês *cloud point extraction*;
- CSV** Voltametria de redissolução catódica, do inglês *cathodic stripping voltammetry*;
- DLLME** Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*;
- DPR** Desvio padrão relativo
- EPA ou USEPA** Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês *Environmental Protection Agency*;
- ETAAS** Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês *electrothermal atomic absorption spectrometry*;
- ETV-ICP-AES** Espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado com vaporização eletrotérmica, do inglês *electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*;
- EU** União Europeia, do inglês *European Union*;
- FAAS** Espectrometria de atomização por chama, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*;
- FBA** Análise em fluxo batelada, do inglês *flow batch analysis*;
- FB-GLS chamber** Câmara flow-batch separador gás-líquido, do inglês *chamber flow-batch gas-liquid separator*;

FIA Análise por injeção em fluxo, do inglês *flow injection analysis*;

GFAAS Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry*;

GPCL Quimiluminescência da fase gasosa, do inglês *gas phase chemiluminescence*;

HG Geração de hidretos, do inglês *hydride generation*;

HG-AFS Espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidreto, do inglês *hydride generation and atomic fluorescence spectrometry*;

HG-ICP-AES Espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado com geração de hidretos, do inglês *ion chromatography (IC) coupled with hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*;

IARC Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer, do inglês *International Agency for Research on Cancer*;

IC Cromatografia iônica, do inglês *ionic chromatography*;

IC-ICP-MS Espectrometria de massas por plasma indutivamente acoplado com cromatografia iônica, do inglês *ion chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry*;

ICP-MS Espectrometria de massas por plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*;

ICP-oe-TOF-MS Espectrometria de massas por tempo de voo de aceleração ortogonal plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma orthogonal acceleration time-of-flight mass spectrometry*;

INAA Análise de ativação neutrônica instrumental, do inglês *instrumental neutronic activation analysis*;

IUPAC União de Química Pura e Aplicada, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*;

LC Cromatografia líquida, do inglês *liquid chromatography*;

LD Limite de detecção;

LLE Extração líquido-líquido, do inglês *liquid-liquid extraction*;

LME Extração por membrana líquida, do inglês *liquid membrane extraction*;

LMT Limite Máximo de Tolerância;

LQ Limite de quantificação

MCFA Análise em fluxo multi-comutado, do inglês *multi-commutated flow analysis*;

MIP-AES Espectrometria de emissão atômica por plasma induzido por microondas, do inglês *microwave induced plasma atomic emission spectrometry*;

MSFA Análise em fluxo monossegmentado, do inglês *monosegmented flow analysis*;

MSFIA Análise em fluxo por multiseringas, do inglês *multisyringe flow injection analysis*;

MSR Metodologia de superfície de resposta;

OMS Organização Mundial de Saúde

PET Polietileno tereftalato, do inglês *poly(ethylene terephthalate)*;

pH Pontencial hidrogeniônico;

PTFE Politetrafluoretileno, do inglês *poly(tetrafluoroethene)*;

RSM Metodologia de superfície de resposta, do inglês *response surface methodologies*;

SDE Extração em gota única, do inglês *single drop extraction*;

SIA Análise injeção sequencial, do inglês *sequential injection analysis*;

SPE Extração em fase sólida, do inglês *solid phase extraction*;

THB Íon tetrahidroborato;

TMSb Trimetilantimônio;

WHO Organização Mundial da Saúde, do inglês *World Health Organization*;

XRF Espectrometria de fluorescência por raios-X, do inglês *X-ray fluorescence spectrometry*;

RESUMO

O presente trabalho de pesquisa aborda o desenvolvimento de métodos automáticos para a especiação de antimônio inorgânico e determinação de antimônio total. O acoplamento inédito do sistema em fluxo batelada, geração de hidretos e a espectrometria de fluorescência atômica foi denominado método FBA-HG-AFS. A primeira metodologia foi desenvolvida para a especiação de Sb inorgânico em amostras aquosas. O método foi otimizado utilizando um planejamento fatorial completo e uma matriz Box-Behnken. Os fatores envolvidos na otimização foram o fluxo do gás de arraste e as concentrações de ácido clorídrico (HCl) e borohidreto de sódio (NaBH_4). As condições experimentais otimizadas permitiram a determinação de Sb entre 100 a 2.000 ng L^{-1} , em que os limites de detecção (LOD) e quantificação foram (LOQ) de 6 e 20 ng L^{-1} , respectivamente. A exatidão do método proposto foi confirmada pela análise do material de referência certificado (SRM 1643e) e testes de recuperação para Sb(III) e Sb(V) (90 - 114%). O método para análise de água apresentou frequência analítica de 54 especiações por hora, acompanhado de baixo consumo de amostras e reagentes, bem como baixa geração de resíduos. O método proposto foi aplicado em três amostras de água mineral, uma de água de torneira, uma de água de lagoa e uma água do mar na cidade de Maceió, Alagoas. Os resultados das análises mostraram que as concentrações variaram de 140 ± 20 a $430 \pm 30 \text{ ng L}^{-1}$ para Sb(III), de 210 ± 30 a $990 \pm 90 \text{ ng L}^{-1}$ para Sb(V) e de 350 ± 20 a $1.410 \pm 90 \text{ ng L}^{-1}$ para Sb total. O segundo método propõe a determinação direta automática de Sb total em amostras de suco de uva utilizando o sistema FBA-HG-AFS. O HCl foi mais adequado para a extração do Sb, proporcionando extrações em um tempo de 5,0 s. A etapa de otimização foi realizada empregando uma matriz Box-Behnken onde as concentrações de HCl, NaBH_4 e vazão de argônio foram os fatores estudados. Com as condições otimizadas, uma curva analítica de 0,1 a 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ foi construída e apresentou LOD e LOQ de 0,02 e 0,066 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A precisão do método foi confirmada com testes de recuperação, que variaram de $88,8 \pm 1,5$ até $116,2 \pm 1,2 \%$ para Sb total. O método não apresentou diferença significativa a um nível de 95 % de confiança quando comparado ao procedimento de referência. As concentrações de antimônio total encontradas variaram de $1,23 \pm 0,05$ a $4,58 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ em amostras de sucos de uvas adquiridas na cidade de Maceió, Alagoas, apresentando desvio padrão relativo (DPR %) menor que 3,7 %. Por fim, o sistema apresentou uma frequência analítica de 87 h^{-1} e baixa geração de resíduos.

Palavras-chave: metal tóxico; análise em fluxo-batelada; geração de hidretos; planejamento Box-Behnken; análise de águas; análise de suco de uva.

ABSTRACT

This research paper addresses the development of automatic methods for inorganic antimony speciation and total antimony determination. Unpublished coupling of the flow-batch system, hydride generation and atomic fluorescence spectrometry was named the FBA-HG-AFS method. The first methodology was developed for inorganic Sb speciation in aqueous samples. The method was optimized using a full factorial design and Box-Behnken matrix. The factors involved in the optimization were the carrier gas flow and the concentrations of hydrochloric acid (HCl) and sodium borohydride (NaBH_4). The optimized experimental conditions allowed the determination of Sb between 100 and 2.000 ng L^{-1} , where the detection and quantification limits were 6 and 20 ng L^{-1} , respectively. The accuracy of the proposed method was confirmed by analysis of certified reference material (SRM 1643e) and recovery tests for Sb(III) and Sb(V) (90 - 114%). The method for water analysis showed sample throughput of 54 speciation per hour, accompanied by low consumption of samples and reagents as well as low waste generation. The proposed method was applied to three samples of mineral water, one tap water, one pond water and one sea water in the city of Maceió, Alagoas. The results of the analyzes showed that the concentrations ranged from 140 ± 20 to $430 \pm 30 \text{ ng L}^{-1}$ for Sb (III), from 210 ± 30 to $990 \pm 90 \text{ ng L}^{-1}$ for Sb (V) and from 350 ± 20 to $1.410 \pm 90 \text{ ng L}^{-1}$ for total Sb. The second method proposes the automatic direct determination of total Sb in grape juice samples using the FBA-HG-AFS system. The HCl was more suitable for the extraction of Sb, providing extraction in a time of 5,0 s. The optimization step was carried out employing a Box-Behnken matrix where the concentration of HCl, NaBH_4 and argon flow were the factors studied. Under the optimized conditions, an analytical curve of 0,1 to 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ was constructed and presented detection and quantification limits of 0,02 and 0,066 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The accuracy of the method was confirmed with recovery tests, which ranged from $88,8 \pm 1,5$ to $116,2 \pm 1,2 \%$ for total Sb. The method showed no significant difference at a level of 95% confidence compared to the reference procedure. The total antimony concentrations found ranged from $1,23 \pm 0,05$ to $4,58 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ in samples of grape juices acquired in the city of Maceió, Alagoas, presenting lower relative standard deviation (RSD %) less than 3.7%. Finally, the system presented an analytical frequency of 87 h^{-1} and low residue generation.

Keywords: toxic metal; flow- batch analysis; generation of hydrides; Box-Behnken planning; water analysis; analysis of grape juice..

1 INTRODUÇÃO

1.1 Justificativa e caracterização da problemática

Processos naturais como o intemperismo, vulcanismo e ciclo geoquímico, explicam parte da presença natural de elementos traço e tóxicos pouco abundantes nos mais variados exossistemas. Por outro lado, atividades humanas como mineração, fundição, agricultura, fabricação de utensílios e peças por exemplo, podem provocar uma alocação adicional desses elementos no meio ambiente. Dentre esses, o antimônio (Sb) tem uma larga aplicação industrial, sendo abundantemente utilizado no processo de fabricação de vidro, cerâmica, tintas, produtos têxteis, baterias, metalurgia. Convém ainda ressaltar o uso como retardante de chama, em medicamentos para combater a *Leishmaniose*, no processo fábriil da borracha e como catalisador na fabricação de recipientes de polietileno tereftalato (PET) [1,2]. Devido ao largo uso do Sb, as atividades antropogênicas, em muitos casos, são as principais fontes de entrada de antimônio frente aos processos naturais [3].

O antimônio é encontrado na crosta terrestre, principalmente no recurso solo e em águas de rios e lagos, formando compostos com o enxofre (Sb_2S_3) e com o oxigênio (Sb_2O_3), além de compostos orgânicos metilados. Em matrizes de interesse ambiental, ele está presente principalmente nas formas inorgânicas trivalente e pentavalente [4]. Este analito tem despertado o interesse da comunidade científica, pois além de não ter função biológica conhecida, é facilmente acumulado em organismos, podendo causar efeitos nocivos à saúde humana [5]. As espécies inorgânicas de Sb são mais tóxicas que as orgânicas, onde as formas trivalentes apresentam cerca de 10 vezes mais toxicidade do que as pentavalentes [6]. Esta maior toxicidade do Sb(III) se deve, principalmente, à sua alta afinidade pelos glóbulos vermelhos e grupos sulfidril dos constituintes celulares [7]. Devido a esses fatos, problemas de irritação respiratória, pneumoconiose, manchas cutâneas de antimônio, sintomas gastrointestinais, cardiotoxicidade e até pancreatite são relatados [7].

Desse modo, a toxicidade do antimônio e seus compostos tem despertado preocupação recorrente nos diversos órgão reguladores [8]. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) [9] e a Organização Mundial de Saúde (OMS) [10] estabelecem como concentração máxima admissível de antimônio em água potável os valores de 20 e 6 $\mu\text{g L}^{-1}$. Em amostras de suco de fruta no Brasil o limite máximo de tolerância (LMT) de Sb é de 1 mg L^{-1} , Ministério da Saúde/portaria 685

[11], e a ingestão diária, segundo pesquisadores não deve ser superior a $6,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ [12]. Assim, métodos analíticos com sensibilidade adequada para determinação e especiação de antimônio nas mais diversas matrizes tornam-se muito importantes para proteger a saúde.

Devido à baixa concentração e ao caráter volátil desse elemento, a elaboração de métodos analíticos confiáveis com o intuito de minimizar os efeitos de matriz e ampliar a faixa de aplicação das técnicas mais utilizadas para esse monitoramento é um desafio. Uma interessante estratégia que pode ser empregada nesses casos é a geração de hidretos (HG), que por meio de uma reação química o analito é convertido em um composto volátil e é separado da matriz, transportado ao atomizador e quantificado pelas principais técnicas espectroanalíticas disponíveis [13]. O uso desta técnica para introduzir o analito na forma de hidreto, proporciona aumentos de sensibilidade e seletividade, o que permite obter métodos analíticos com baixos limites de detecção [14].

As técnicas espectroanalíticas de detecção mais empregadas para a determinação e especiação de antimônio são: a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS), a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), e a espectrometria de fluorescência atômica (AFS), que geralmente acoplada à HG [15]. Métodos analíticos que fazem uso de uma das duas primeiras técnicas frequentemente necessitam de algum procedimento adicional de preparo de amostra para alcançar a sensibilidade adequada para a determinação em nível traço de antimônio. O acoplamento da geração de hidretos com a espectrometria de fluorescência atômica dispensa uso desses procedimentos.

Assim, o emprego da técnica de geração de hidretos acoplada à espectrometria de fluorescência atômica possibilita o desenvolvimento de métodos altamente sensíveis. Nessa perspectiva, o emprego de sistemas automático acrescenta a esses métodos o baixo consumo de reagentes e amostras, mínima geração de resíduos, aliado a resultados reprodutíveis e considerável frequência analítica. O uso do sistema automático em fluxo-batelada corrobora com o desenvolvimento de novos métodos de análise possibilitando uma elevada frequência analítica, flexibilidade e versatilidade operacional, com emprego de pequenos volumes dos fluidos aliado à rápida e eficiente homogeneização das misturas [16].

Diante do exposto, propõe-se nesse trabalho o acoplamento inédito do sistema automático fluxo-batelada, geração de hidreto e a espectrometria de fluorescência atômica, denominado método FBA-HG-AFS (do inglês: “*flow-batch analysis hydride generation atomic fluorescence spectrometry*”). Assim, o presente trabalho de pesquisa objetivou explorar esse sistema automático no desenvolvimento de métodos para geração de hidreto de antimônio com detecção por fluorescência atômica para a especiação em nível traço de antimônio em matrizes aquosas, e determinação direta de antimônio total em amostras de suco de uva com o pré-tratamento da amostra *on-line* por extração ácida.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Desenvolver estratégias analíticas automáticas visando à determinação e especiação de antimônio em amostras aquosas e em sucos de uva, empregando a geração de hidretos e espectrometria de fluorescência atômica.

1.2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um sistema automático para a determinação e especiação de antimônio inorgânico;
- Empregar uma câmara de mistura, principal componente do sistema fluxo-batelada, para atuar como separador gás/líquido;
- Desenvolver um programa de controle do sistema automático fluxo batelada em ambiente Labview®;
- Desenvolver um método automático fluxo batelada para determinação e especiação de antimônio inorgânico em amostras aquosas;
- Empregar o sistema automático proposto na especiação de Sb(III), Sb(V) e Sb total em matrizes aquosas;
- Desenvolver um método para extração ácida antimônio total em amostras de suco de uva;
- Empregar o sistema automático proposto na determinação direta de Sb total em amostras de suco de uva;
- Empregar a técnica espectrométrica de fluorescência atômica para determinação e especiação de antimônio;
- Avaliar o desempenho da performance analítica dos métodos automáticos propostos;

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 O Antimônio

2.1.1 Generalidades e propriedades físico-químicas

O antimônio é um metal pouco abundante na crosta terrestre, de coloração branco-prateado, que em condições normais de temperatura e pressão apresenta-se em estado sólido [4,17] e é encontrado de forma natural em baixas concentrações, principalmente no recurso solo, na água de rios e lagos [18,19]. Na natureza, ele ocorre principalmente como estibinita ou antimonita (Sb_2S_3) e valentinita (Sb_2O_3), que são compostos geralmente encontrados em minérios de cobre, prata e chumbo, no petróleo e no carvão [20]. Adicionalmente, outras espécies de antimônio podem ser encontradas na forma orgânica como espécies metiladas, ácido estibínico monometilado, ácido estibínico dimetilado, monometilestibina e dimetilestibina [4,12], por exemplo. Algumas características físico-químicas do antimônio são mostradas na **Tabela 1**.

Tabela 1 Características físico-químicas do antimônio.

Massa atômica (g mol^{-1})	121,75
Número atômico (Z)	51
Volume molar ($\text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$)	18,19
Isótopos estáveis	^{121}Sb (57,21) ^{123}Sb (42,78)
Ponto de fusão ($^{\circ}\text{C}$)	631
Ponto de ebulição ($^{\circ}\text{C}$)	1750
Resistividade elétrica ($\mu\Omega \text{ cm}$ (293 K))	41,7
Condutividade térmica ($\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$)	24
Estado de oxidação	0, -3, +3, +5
Raio iônico (pm)	140
Densidade (g cm^{-3})	6,53

O antimônio pode ser sintetizado pela redução direta do sulfeto com ferro, como mostra a **Equação 1** [21]. Uma outra forma de obtenção é a partir da queima do sulfeto, que se obtém o óxido de antimônio(III) (Sb_2O_3), que é reduzido juntamente como coque para a obtenção do antimônio **Equação 2** [4]. A **Tabela 2** mostra as diferentes energias de ionização para o Sb.



Tabela 2 Energias de ionização do Sb.

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

Fonte: *Handbook of Chemistry and Physics* [22]

2.1.2 Presença em sistemas ambientais

O elemento químico antimônio ocorre naturalmente em rochas, água não poluída e solos em concentrações de 0,15 – 2 mg kg⁻¹, menor que 1 µg mL⁻¹ e 0,3 – 8,6 mg kg⁻¹, respectivamente [23]. No entanto, ele está presente em concentrações elevadas em diferentes condições ambientais, biológicas e compartimentos geológicos. Este fato é devido à sua mobilidade de minerais como rochas, por exemplo, bem como atividades antropogênicas de mineração, fundição, queima de combustíveis fósseis, treinamento militar, uso de pesticidas e produtos farmacêuticos [24–27]. Assim, a presença de antimônio no meio ambiente é devido a soma de processos naturais de intemperismo de rochas e processo de lixiviação do solo juntamente a atividades antropogênicas.

Nesse contexto, as atividades humanas se tornam as principais fontes de entrada de Sb no meio ambiente frente aos processos naturais [3]. As emissões

vulcânicas, por exemplo, representam cerca de 3 a 5% da emissão global de Sb na atmosfera [28], enquanto que às associadas a ação antropogênica oriundas de incineração de lixo representam cerca de 19% da emissão total desse elemento [29]. A queima de combustíveis fósseis, segundo Krachler e colaboradores (2005), parece ser a maior fonte antropogênica de entrada de Sb no meio ambiente (~ 50% do total de emissões resultantes de atividades humanas) nos últimos anos [29]. Dessa forma, os grandes centros urbanos tem tendência a concentrar uma maior quantidade de Sb, onde essas emissões estão diretamente relacionadas, na maior parte dos casos, a atividade industrial. Por exemplo, em sedimentos próximos a instalações industriais a concentração de Sb pode chegar a atingir níveis 100 vezes maiores que a concentração natural [4,30]

Dessa maneira, é notório que as atividades humanas provocam um elevado impacto ao ciclo geoquímico ambiental do Sb [28]. Devido a essas ações e ao transporte aéreo natural, o antimônio pode ser encontrado em ambientes afastados de fontes originais de poluição. Este fato está ligado à processos de incineração de resíduos plásticos, a queima de combustíveis fósseis e a fundição de metais (onde o Sb está principalmente na forma de óxidos), que formam aerossóis com alta concentração desse metal e estão sujeitos ao transporte aéreo a lugares distantes [29]. Assim, a atmosfera é um importante meio indicativo para se observar o transporte aéreo do Sb. Patriarca e colaboradores (2000), estudaram a exposição e a inalação de recém-nascidos, crianças e jovens a esse elemento em regiões da Europa. Segundo esses estudos, os pulmões absorvem em média 15% do Sb disponível no ar dependendo do tamanho das partículas e da solubilidade da espécie de Sb presente [30].

No recurso solo, o antimônio geralmente se acumula nas camadas superficiais e a medida que a profundidade aumenta a sua concentração diminui. Esse fato foi confirmado em um estudo feito na China (Hezhang), pois os níveis de contaminação em solos agrícolas perto de campos de mineração, variando até uma profundidade de 40 metros, mostrou que a concentração de Sb e outros elementos diminuíam conforme aumento de profundidade. Portanto, há um indicativo muito forte da existência de correlação entre o transporte aéreo de Sb e a contaminação do solo [31].

Apesar do antimônio apresentar quatro estados possíveis de oxidação, no entanto, em amostras ambientais, biológicas e geológicas é geralmente encontrado sob a forma trivalente e pentavalente [20,32,33]. Em ambientes que são moderadamente redutores e anaeróbicos predominam as formas trivalentes, já a espécie pentavalente predomina em ambientes ricos em oxigênio. Sabe-se que o pH do meio define a estabilidade e predominância das espécies de antimônio [34]. A **Tabela 3** mostra as espécies químicas mais comuns de antimônio que podem ser encontradas no meio ambiente com seus respectivos estados de oxidação

Tabela 3 Espécies químicas de antimônio encontradas sistemas ambientais. Adaptada de WILSON et al.[35] e VIEIRA [36].

Forma	Fórmula
Minerais	Sb_2O_4 / Sb_2O_3 (cúbico) / Sb_2O_3 (ortorrômbico) / Sb_2S_3
Espécies aquosas (estado de oxidação 5+)	$\text{Sb}(\text{OH})_6^-$ / $\text{Sb}(\text{OH})_5$
Espécies aquosas (estado de oxidação 3+)	$\text{Sb}(\text{OH})_3$ / $\text{Sb}(\text{OH})^+$
Gases	$2 / \text{Sb}(\text{OH})_4^-$ / $\text{H}_2\text{Sb}_2\text{S}^+_{4}$
Outras espécie metiladas	$\text{Sb}(\text{CH}_3)_3$ / SbH_3
	$(\text{CH}_3)_3\text{Sb}$ / $(\text{CH}_3)_2\text{Sb}(\text{O})\text{OH}$ / $(\text{CH}_3)\text{SbO}(\text{OH})_2$

2.1.3 Aplicações industriais

A produção anual de antimônio, em 2018, foi aproximadamente 140 mil toneladas, tendo como principais produtores a China, Rússia, Tajiquistão e Austrália, conforme dados mostrados na **Tabela 4**. Dentre os maiores produtores, a China ocupa uma posição de destaque por deter mais de 70% da produção global de antimônio em 2018 [37]. Apesar do largo uso nas atividades e processos industriais, que será discutido nos parágrafos seguintes, a produção global anual de antimônio vêm apresentando uma diminuição, boa parte devido à redução das atividades de mineralização do maior produtor, a China. Dados do ano de 2011 a 2015 mostram que houve uma contração na produção de antimônio, que passou de 150 para 115 toneladas por ano [6].

Tabela 4 Produção anual de antimônio.

País	2017	2018
China	98.000	100.000
Rússia	14.400	14.000
Tajiquistão	14.000	14.000
Austrália	3.120	3.100
Bolívia	2.700	2.700
Turquia	2.000	2.000
Birmânia	1.000	1.000
Cazaquistão	700	700
Laos	340	300
México	243	240
Total mundial	137.000	140.000

Fonte: Mineral commodity summaries 2019 (adaptado) [37]

A literatura relata usos importantes dos compostos de antimônio em atividades e processos industriais, e segundo Filella e colaboradores (2002), o trióxido de antimônio (Sb_2O_3) é uma das formas antimonial de maior aplicação, comumente encontrado em retardantes de chama na indústria têxtil e de plásticos [20]. Essa forma de antimônio é também muito utilizada na síntese do PET, durante as etapas de manufatura dessas embalagens diversas reações de polimerização acontecem e são adicionadas substâncias, como ftalatos e catalisadores, de modo a melhorar a qualidade do polímero produzido [38,39]. Assim, a adição do Sb_2O_3 aumenta a eficiência do processo e diminui a formação de produtos indesejados, melhorando a produção de polímeros sem coloração [40,41].

O antimônio é também utilizado na fabricação de cerâmicas e vidros, como aditivo em vulcanização de borracha, em pigmentação de tintas, baterias e processos de catálise industrial. Ele também é usado na fabricação de materiais semicondutores para produção de diodos, cuja presença de antimônio confere uma maior resistência e dureza [20]. Além disso, atua como catalisador de amoxidação, na produção de

acrinonitrilas a partir da glicerina, para manter o oxigênio na superfície do sólido (catalisador multimetálico) [42].

Na forma de trissulfeto de antimônio (Sb_2S_3), o Sb é empregado na fabricação de explosivos, pigmentos e sais de antimônio [17]. Ainda nessa forma, ele é usado em ligas de rolamentos de motor, produção de pastilhas de freio ou em revestimentos como lubrificantes, cuja finalidade é minimizar possíveis vibrações e proporcionar maior estabilidade em frenagens. Aproximadamente, existe 7% de compostos de antimônio nas pastilhas de freio [43].

Convém ainda ressaltar que compostos de antimônio, na forma orgânica como Sb(V), são empregados como anti-inflamatórios e no tratamento de doenças causadas por parasitas, a exemplo da leishmaniose, cujo correto mecanismos de funcionamento desses compostos ainda não é bem esclarecido [44]. Essa doença infecciosa é comum em países de clima quente e temperado, é transmitida por insetos vetores, os flabotomíneos, comumente conhecido no Brasil como mosquito palha [45].

2.1.4 Ocorrência em águas e em sucos de uva

Em águas não contaminadas, a concentração de antimônio total geralmente varia de poucos ng L^{-1} a $1 \mu\text{g L}^{-1}$. No entanto, próximo a fontes antropogênicas, essa quantidade pode aumentar em cerca de 100 vezes o nível natural [20]. Conforme Santosa e colaboradores (1997), em amostras de água do mar, situadas em regiões não poluídas, a concentração de Sb é da ordem de ng L^{-1} [46]. Em ambientes aquáticos, as espécies Sb(III) e Sb(V) são poluentes inorgânicos, resultado de processos naturais (intemperismo de rochas, escoamento de solo) e atividades humanas [2]. Sendo assim, as quantidades de antimônio presentes nas águas variam conforme zonas de origem, caminho percorrido, transporte ou forma de estocagem.

As agências de proteção ambiental dos Estados Unidos (USEPA, 1979) e da União Européia (Conselho da Comunidade Européia, 1976), consideram o antimônio e seus compostos poluentes prioritário. O limite máximo permitido em água potável, estabelecido pela USEPA e a União Européia, é de $6 \mu\text{g L}^{-1}$ e de $5 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA 357/2005) estabelece o valor de limite máximo permitido de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ [47]. A **Tabela 5**

apresenta os valores máximos de concentrações segundos os órgãos reguladores nacionais e internacionais.

Tabela 5 Valores máximos de concentrações.

Tipo de água	Sb ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
Potável	5	Portaria (2914/2011) [48]
	6	(USEPA)[49]
	5	European Union (EU)[50]
Doce	5	(CONAMA 357/2005) [47]
Subterrânea	5	CONAMA (396/2008) [51]

Na literatura, é possível encontrar diversos trabalhos de determinação e/ou especiação de antimônio em diferentes tipos de águas. A determinação desse metal em águas em garrafas do tipo PET está atualmente em destaque, e tem sido amplamente estudada em trabalhos de pesquisa publicados recentemente [52–54]. Estudos apontam que o Sb, usado na fabricação do PET, pode ser lixiviado a partir das embalagens para o líquido em seu interior. Essa migração é influenciada por fatores como tamanho, cor da embalagem PET, pH, radiação solar, tempo de estocagem e temperatura da água mineral [44,55–57].

Entre os diversos sucos de fruta comercializados no Brasil, o suco de uva ocupa uma posição destaque tanto no quesito relativo ao consumo *per capita*, que chega a 0,56 L/ano, como pelo aumento no consumo nas últimas décadas [58]. Para suco de fruta no Brasil o Limite Máximo de Tolerância (LMT) de Sb é de 1 mg L^{-1} [11]. Segundo Ferreira e colaboradores (2014), a ingestão diária máxima de antimônio é de $6,0 \mu\text{g kg}^{-1}$, ou seja, um adulto de 70 kg tolera até 420 mg desse metal por dia [12]. Valores acima dessa quantidade podem ocasionar problemas de saúde.

A presença de Sb em suco de uva é basicamente atribuída a três fatores: contaminações durante o processo de fabricação, a lixiviação de Sb presente nas composições das embalagens de vidro, PET ou Tetra pack® [59] e presente na composição natural da própria uva [60]. Assim, a concentração total de Sb presente nos sucos de uva é o resultado da soma desses fatores. Todavia, não é possível

afirmar qual o fator de maior impacto nessa soma, tendo em vista que as uvas, embalagens e maquinário utilizados no processo de fabricação têm características diferem muito entre os fabricantes.

Diferentemente do estudo de antimônio em águas, há poucos trabalhos que determinaram este analito em sucos de uva. Um importante estudo de revisão sobre análise de sucos mostrou que há poucos trabalhos de pesquisa que determinaram a concentração desse analito nessa matriz [61]. Assis e colaboradores (2008) realizaram um estudo com 31 amostras de suco de uva de 20 marcas diferentes oriundas de 9 diferentes estados brasileiros. Neste trabalho foram determinados concentrações de elementos traço, dentre o Sb, e o elemento sódio. O antimônio foi determinado por ICP-MS e a máxima concentração encontrada foi de $4,0 \mu\text{g L}^{-1}$ [62].

Em um outro estudo, Y. Xia (2011) determinou a concentração de antimônio em águas, bebidas e frutas. Nesse estudo, ele demonstra que a lixiviação do Sb, presente nas garrafas plásticas, provoca uma elevação nos valores de concentração normalmente verificados em bebidas. Também relatou encontrar quantidades significativas de Sb em sucos acondicionados em garrafas de vidro e que o ácido cítrico pode aumentar a lixiviação do metal. E, em outra parte deste trabalho de pesquisa, o autor determinou a concentração de antimônio na uva. Esse estudo não havia sido relatado na literatura até o momento. Assim, o Sb foi determinado por ICP-MS e sua concentração em uvas frescas foi de $1,72 \mu\text{g kg}^{-1}$ e na casca foi de $1,42 \mu\text{g kg}^{-1}$. Devido a esses resultados, o autor afirma que a própria uva contém em sua composição o antimônio [60].

A presença de Sb foi também confirmada por Altunay e Gürkan (2015) através de um método de extração em ponto nuvem (CPE, do inglês *Cloud Point Extraction*) em amostras biológicas e de bebidas por espectrometria de absorção em chama (FAAS). O método baseou-se na formação de complexos entre Sb(III) e Sb(V) com Azul Puro Vitória BO (VPB^+) em pH 10. Assim as espécies de Sb foram individualmente detectadas. Dentre outras amostras, a concentração de Sb total em suco de uva encontrada foi de $15,7 \mu\text{g L}^{-1}$ [63].

Recentemente, Lin e colaboradores (2017) determinaram compostos de antimônio em água e sucos usando cromatografia iônica acoplada ao ICP-MS. Nesse estudo, foram determinadas as espécies antimonita [Sb(III)], antimoniato [Sb(V)] e

trimetil antimônio(V) (TMeSb) em garrafas PET. Para Sb total, a concentração encontrada foi de $1,17 \mu\text{g L}^{-1}$ [64].

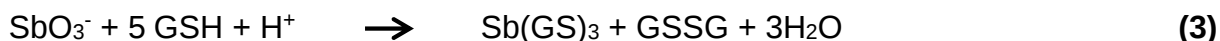
2.1.5 Toxicidade e efeitos da exposição ao antimônio

Como já foi abordado em tópicos anteriores, os processos antrópicos contribuem de forma significativa para o aumento da concentração de antimônio em determinados compartimentos ambientais [65]. Juntamente a isso, a preocupação a cerca do impacto ambiental e dos possíveis efeitos à saúde também tem crescido consideravelmente. Com isso, o Sb e seus compostos estão na lista de poluentes de interesse prioritário pela Agência Americana de Proteção Ambiental (USEPA), Organização Mundial da Saúde (WHO) e pela União Européia (EU) [10,66].

Compostos inorgânicos de antimônio são mais tóxicos que os orgânicos, e as espécies inorgânicas de Sb(III) são aproximadamente 10 vezes mais tóxicas que as espécies de Sb(V) [67–69]. Dentre os compostos de Sb, o trióxido de antimônio (Sb_2O_3) é possivelmente carcinogênico para humanos (Grupo 2B), enquanto que no trissulfeto de antimônio (Sb_2S_3) (grupo 3) essa característica não é evidenciada segundo a classificação da Agência Internacional de Investigação sobre o câncer (IARC) [69]. Conforme estudos de Belzile e colaboradores (2011), pessoas que vivem próximas a áreas contaminadas estão sujeitas a ingerirem diariamente entre 1,0 a 80 μg de Sb. Essa ingestão, seja por alimentos, por fontes ambientais ou água, tem sido maior que a forma mais comum de contaminação, que é a inalação [70]

A maior toxidade do Sb(III) é devida a sua maior afinidade pelos grupos funcionais presentes nas células, que pode vir a ocasionar uma desativação de possíveis sítios ativos funcionais. A toxidade dessa espécie é devida a sua alta afinidade pelos eritrócitos e grupos sulfidrilas das células, enquanto que o Sb(V) praticamente não consegue permear os glóbulos vermelhos [7]. Adicionalmente, tem sido proposto que em meio biológico o Sb(V) pode ser reduzido a Sb(III) por tióis presentes nos organismos. Tal proposta sugere que um do compostos mais prováveis por essa redução pode ser a glutathione (GSH), cuja qual possui grupos sulfidrilas e um tiol mais predominante no interior da célula. Então, essa redução resulta em uma ligação química entre os grupos sulfidrilas (-SH) como o Sb(III) como mostra a

Equação 3. Em contrapartida, o Sb(V) permanece livre no plasma e é expelido de forma mais rápida [71].



Onde: GSH = C₁₀H₁₇N₃O₆S e

GSSG = C₂₀H₃₂N₆O₁₂S₂

Quanto a absorção de Sb por órgãos do corpo humano, comumente, as espécies inorgânicas se acumulam em órgãos vascularizados e tecidos, principalmente nos rins, fígado, baço e no sangue. Apesar de prejudicar as células do organismo, o exato mecanismo dessa acumulação, no entanto, ainda não é bem estabelecido na literatura [72,73].

Alguns sintomas iniciais por intoxicação de Sb podem ser observados, como tontura, dores de cabeça, náusea, diarreia, tosse, redução de libido, dores no peito e náusea [1]. A exposição crônica ao Sb pela inalação provoca o desenvolvimento de alguns problemas, tais como: pneumoconiose associada à doença pulmonar obstrutiva, aumento de pressão arterial, problemas cardíacos, dor abdominal, úlceras e dermatoses, conhecidas por manchas de Sb, que são um tipo de erupção cutânea que infectam glândulas sudoríparas e sebáceas [9]. Segundo Santos (2006), essa exposição ainda pode provocar irritação na mucosa digestiva provocando vômitos, salivação, hipotermia e hipotensão [74]. Convém ainda mencionar que pode ocorrer irritação do tecido conjuntivo, podendo provocar conjuntivite, segundo ATSDR (2017) [75].

2.1.6 Preparo de amostra de sucos para a determinação de antimônio total

Por estar naturalmente em níveis traço em matriz de suco de frutas e aliado à complexidade dessa matriz, a determinação de antimônio é na maioria das vezes um desafio analítico. Interferências espectrais e perdas por volatilização, resultantes de preparo de amostras, são dificuldades geralmente encontradas nas determinações rotina desse analito. Assim, conforme a natureza da amostra, o método de preparo e a técnica analítica a serem escolhidos são etapas críticas do processo de quantificação.

Para a determinação de metais em sucos, técnicas espectroanalíticas são geralmente empregadas. A introdução da amostra nesses sistemas, na maioria das vezes, precisa ser feita na forma de solução em que o analito esteja na forma compatível para análise. Portanto, na maior parte dos processos, procedimentos associados ao preparo de amostras precisam ser empregados para que a matéria orgânica seja eliminada ou convenientemente diminuída [76]. A diminuição de compostos orgânicos podem ser feitas empregando diluições ou decomposições parcial. Já para a decomposição total, a abertura de amostra pode ser feita por via úmida, conhecida por digestão, ou por via seca, comumente chamada de calcinação ou incineração.

Por apresentar grandes quantidades de componentes sólidos como açúcar, proteínas, amido e diferentes aditivos, a abertura da matriz de sucos é uma atividade complexa e laboriosa [77]. Além disso, essas matrizes apresentam uma grande quantidade de compostos inorgânicos formados por elementos como cálcio, potássio, magnésio, sódio, cloretos, sulfatos e fosfatos [78]. A alta carga de componentes sólidos aliados a alta viscosidade tornam a análise direta, por vezes, um procedimento não viável por gerar problemas na introdução da amostra, além de interferência de matriz e interferência espectral em técnicas analíticas como FAAS [79], GFAAS [80] ICP-OES [81,82], por exemplo. Assim, as amostras de sucos podem ser diluídas e/ou decomposta parcialmente, ou ainda, mineralizadas para diminuir ou destruir a matéria orgânica, respectivamente. Entretanto, para uma degradação eficiente dos compostos orgânicos, ou seja uma mineralização completa, se faz necessário o uso de quantidades consideráveis de reagentes, que podem ser uma fonte adicional de contaminação para as amostras que estão sendo analisadas [77].

Na decomposição por via úmida ácidos oxidantes como os ácidos sulfúrico, nítrico e perclórico (ou a mistura deles) adicionados de água oxigenada se necessário, são comumente empregados. Na decomposição por via seca em forno mufla e utilizando reagentes como o MgO e $Mg(NO_3)_2$ no preparo das amostras, há um aumento na velocidade de oxidação e perdas por volatilização são evitadas [83].

Nesse contexto, procedimentos de decomposição total por via úmida em sucos para a determinação de Sb podem ser efetuados em sistemas fechados como em forno de microondas [64,84] ou em sistemas abertos que podem ser chapa de

aquecimento ou bloco digestores [85]. Decomposição parcial da matéria orgânica também pode ser utilizada para minimizar a presença de compostos orgânicos [86]. O procedimento de diluição das amostras também pode ser empregado nesse sentido [59,60,62,87]. A mineralização por via seca é também usada para total destruição dos compostos orgânicos através de aquecimento em forno mufla [88]. A **Tabela 6** mostra trabalhos que quantificaram o antimônio em diversos tipos de suco, assim como as técnicas analíticas empregadas e procedimentos utilizados na abertura dessas matrizes.

Uma interessante estratégia de preparação de amostra é acidificar as amostras de suco para promover a extração da espécie de interesse. El-Hadri e colaboradores (2007) determinaram arsênio total em sucos, refrigerantes e chás por geração de hidretos e fluorescência atômica (HG-AFS) por análise direta, sem mineralização das amostras. Eles prepararam as amostras com concentração final de 2 mol L^{-1} de HCl, e bons limites de detecção, 0,01 a 0,03 ng mL⁻¹, foram alcançados e não houve diferença significativa entre o método de referência por via seca e a análise direta [89]. Como arsênio e antimônio tem comportamento químico parecido, a extração ácida seria uma interessante metodologia para ser aplicada ao antimônio.

Tabela 6 Determinação de Sb em sucos.

Amostra	Preparo de amostra	Técnica Analítica	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
Suco de laranja e de limão	Diluição de 1:1 com HNO_3 4%	ICP-MS	0,28 – 1,05	[87]
Suco de Limão	Mineralização por via seca em forno mufla	INAA	0,004 – 0,029	[88]
Suco de laranja	Mineralização por via úmida por HNO_3 e H_2SO_4 em bloco digestor	ICP-OES	5 – 38,4	[85]
Suco de laranja e outras amostras	digestão em forno de microondas fechado com HNO_3 e H_2O_2	ICP-oe-TOF-MS	Não revelada	[84]
Sucos de morango, framboesa e cereja	Adição de padrão e diluição com HNO_3	ICP-MS	12,3 – 44,7	[59]
Sucos de laranja e limão,	Filtragem através de filtro 0,45 μm e diluição de 10 vezes;	ICP-MS	1,11 – 1,23	[60]
Sucos de maçã, cenoura e banana	Decomposição parcial com água-régia seguida de sonicação e diluição com HNO_3 e H_2O_2	HG-ICP-OES	4,0 – 13,0 ^a	[86]
Sucos de damasco, de uva, de cereja e limão	Extração em ponto nuvem com triton X-114 e um complexante iônico (VPB^+) a pH 10	FAAS	5,9 – 18,7	[63]
Sucos de toranja, laranja e uva	Digestão em forno de microondas com HNO_3	IC-ICP-MS	0,92 – 1,2	[64]
Suco de uva	Diluição de 10 vezes	ICP-MS	ND – 4,0	[62]

^a ng g⁻¹; ND – Não disponível

2.1.7 Especiação de antimônio inorgânico em água

A água desempenha papel fundamental na manutenção da vida em vários ecossistemas, atuando em funções de transporte de nutrientes para células, hidratação do corpo, entre outras funções corporais [90]. Minerais essenciais como o cálcio, sódio, potássio e magnésio, que são necessários para a manutenção da vida, geralmente fazem parte de composição da água, bem como elementos tóxicos podem também estar presentes. No entanto, a toxicidade desses elementos para o organismo depende de sua concentração e de sua forma química disponível. Assim, conhecer as características, os mecanismos de ação e biodisponibilidade dessas formas químicas, é um importante passo para estimar a toxicidade de um elemento [91]. Portanto, determinar essas diferentes espécies químicas, comumente chamada de especiação, é essencial para estimar a sua toxicidade. Dentre esses contaminantes, o antimônio atualmente ocupa uma posição de destaque tendo em vistas sua classificação como poluente perigoso para saúde humana [9,10].

Conforme a IUPAC (2000), especiação consiste de atividades analíticas de identificação e/ou determinação de quantidade de uma ou mais espécies químicas individuais em uma determinada matriz. Dessa maneira, o termo espécie química corresponde a uma forma específica de um elemento, seja do estado de oxidação e/ou da estrutura eletrônica, da composição isotópica e da estrutura complexada ou molecular [92]. Diante disso, o estudo de especiação envolve a distribuição e monitoramento das espécies químicas de um determinado sistema.

Na especiação, a amostragem deve ser realizada empregando-se cuidados específicos para preservar o estado de oxidação em que espécies químicas se encontram na matriz. O procedimento deve garantir que até o momento da análise as espécies químicas mantenham o equilíbrio químico estabelecido antes da coleta, diferentemente da abordagem feita na determinação total do analito. A determinação total pode ser utilizada para verificar se houve alguma contaminação durante o procedimento de amostragem na especiação ou se ocorreu perda de analito [93].

A especiação de antimônio geralmente é realizada de duas maneiras. A primeira, chamada de especiação cromatográfica, consiste na separação das espécies químicas baseada na cromatografia líquida de alta-eficiência (HPLC)

acoplada as técnicas de detecção de plasma indutivamente acoplado à espectrometria de massas (ICP-MS), espectrometria de fluorescência atômica (AFS) e a espectrometria de absorção atômica (AAS) [94]. Assim, as espécies orgânicas e inorgânicas de Sb são separadas e quantificadas. A segunda estratégia serve apenas para especiação de Sb inorgânico e é conhecida por especiação não-cromatográfica, sendo realizada em duas etapas.

Nesse sentido, para especiação não-cromatográfica, emprega-se o método de geração de hidreto do antimônio, que será discutido em maior profundidade no tópico 3.2.1, através da reação com o íon tetrahidroborato (THB), cuja as técnicas AAS e AFS são as mais empregadas em análises de especiação de antimônio. Esta metodologia permite a especiação de Sb total, de Sb(III) e Sb(V), sendo esta última concentração estimada pela diferença entre o Sb total e o Sb(III). Na determinação do Sb total, adiciona-se um agente pré-redutor para fazer a redução do Sb(V) para Sb(III), levando todo antimônio presente para o menor estado de oxidação. Após isso, é feita a da adição do THB para a formação dos hidretos de antimônio, SbH_3 , e a espécie é detectada. Na etapa final, apenas o Sb(III) é determinado, pois se faz a adição de um agente mascarante para Sb(V), impedindo que este reaja com o THB, e após isso é feita a geração do hidreto pela adição de THB [12].

2.2 Técnicas analíticas para a determinação de antimônio

Por ser naturalmente encontrado em níveis de concentração de $\mu\text{g L}^{-1}$, é comum para sua determinação/especiação um preparo de amostra aliado a técnicas com sensibilidade analítica adequada. Devido a essa baixa concentração, algumas metodologias de separação e pré-concentrações adicionais são por vezes requeridas antes da análise, tais como: extração em ponto nuvem (CPE) [95], extração em fase sólida (SPE) [96], extração por membrana líquida (LME) [97], extração líquido-líquido (LLE) [98], extração em gota única (SDE) [99], microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) [100].

Técnicas hifenadas têm sido empregadas com sucesso na determinação/especiação de Sb, como a cromatografia iônica (IC) acoplada à geração de hidreto e detecção por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (HG-ICP-OES) [101,102]. Da mesma forma, a geração de

hidreto e detecção por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (HG-ICP-AES) [103], espectrometria de absorção em chama (FAAS) [104], vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ETV-ICP-AES) [105], espectrometria de absorção atômica (ETAAS) [106], determinação cinética-espectrofotométrica [107] e espectrofotometria [108] foram empregadas na determinação de espécies de antimônio em bebidas e amostras biológicas.

Para separação de espécies inorgânicas e orgânicas de Sb inorgânicas, técnicas de cromatografia líquida (LC) [109,110] e eletroforese capilar (CE) [111] foram também empregadas. Outras estratégias analíticas como voltametria de redissolução anódica [112,113], voltametria de redissolução catódica [114,115], espectrometria de emissão atômica com plasma induzida por microondas (MIP-AES)[116] e por fluorescência de raio-X [117,118], foram igualmente empregadas com sucesso.

Dentre essas técnicas, à geração de hidreto acoplada à espectrometria de absorção atômica (HG-AAS) e a espectrometria de fluorescência atômica (HG-AFS) são às técnicas mais empregadas nos trabalhos de especiação de antimônio. Devido à alta sensibilidade, ampla faixa de trabalho e baixo custo instrumental, a HG-AFS tem sido a técnica analítica mais empregada para a especiação de Sb em níveis traço [15].

2.2.1 A geração de hidretos na determinação de antimônio

A técnica de geração de hidretos (HG) compreende um processo de derivatização química no qual são produzidos hidretos voláteis do analito resultantes da reação com um agente redutor, que pode ser um metal ou um reagente específico que, na maioria das vezes, é o tetraidroborato de sódio (NaBH_4)-(THB) em meio acidificado [14,119]. Os hidretos produzidos são transportados por um gás de arraste inerte até o atomizador, onde ocorre a atomização do analito. Elementos ambientalmente importantes como o Bi, Se, As, Sb, Te, Ge, Pb e Sn podem formar hidretos covalentes e voláteis. Quando esses elementos são analisados por espectrometria atômica, a HG tem sido a técnica analítica mais empregada [14]. A principal vantagem dessa técnica reside na separação do analito da matriz e, portanto, na diminuição ou mesmo eliminação de interferências de matriz. Aliado a este fato, há um transporte de praticamente 100% do analito para detecção, melhorando a

sensibilidade e o limite de detecção do método. Dessa forma, esta técnica se destaca por ser uma excelente alternativa de introdução de amostra nas determinações espectrométricas [120].

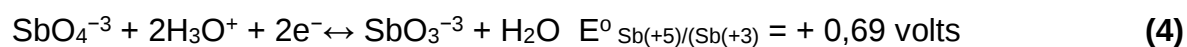
Holak (1969), propôs o primeiro trabalho utilizando a geração de hidretos para determinação de arsênio por espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS). Neste trabalho ele utilizou o zinco metálico como agente redutor para produzir a arsina (AsH_3) na amostra acidificada [121]. Tsujii e Kuga (1974), foi o primeiro trabalho a acoplar a geração de hidreto a AFS não dispersiva. Apesar da limitação da técnica na época, limites de detecção de 2 ng de As e ampla faixa de trabalhos foram relatados [122]. No ano seguinte, Thompson (1975) realizou o primeiro trabalho acoplando a HG ao sistema de AFS dispersiva para determinação de As, Se, Sb e Te, e limites de detecção situaram-se entre 0,06 a 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ [123].

Nesses trabalhos iniciais, os sistemas de redução metal/ácido eram os mais empregados para a geração dos hidretos. Apesar de melhorar o sinal analítico, o uso desses sistemas apresentava limitações como o elevado tempo requerido para formação do hidreto, pois a reação tinha cinética lenta, o sistema de coleta era susceptível à interferência e perda, e a sensibilidade era limitada, devido à alta diluição do hidreto durante a etapa de introdução na chama de difusão argônio/hidrogênio [119,124]. Atualmente, o reagente redutor mais utilizado é a solução de NaBH_4 , que precisa ser preparada em meio-básico para estabilizá-la. Esse redutor possui melhor reprodutibilidade e maior velocidade de reação, que facilita a implementação de procedimentos de automação e confere alta frequência analítica em análises químicas [124].

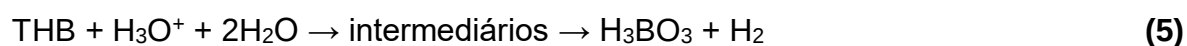
Neste contexto, a HG é a técnica empregada com maior frequência na determinação de Sb em níveis traço. Os compostos de antimônio reagem com o THB em meio ácido para gerar o hidreto de antimônio, comumente chamado de estibina (SbH_3). A redução do Sb(III) ocorre em meio ácido forte para quase neutro com cinética elevada, e o Sb(V) é reduzido somente em pH baixo e têm cinética lenta. Assim, o vapor químico gerado é transportado por argônio e atomizado por AAS ou AFS ou excitado por MIP ou ICP [13,125]. O acoplamento da geração de hidretos à técnicas como ETAAS, AAS, ICP-OES, ICP-MS e AFS, além de ser extremamente simples, promove limites de detecção inferiores em relação a forma tradicional de

inserção da amostra (a nebulização) na especiação de antimônio [119]. Adicionalmente, a análise não-cromatográfica de Sb [126] emprega amplamente a geração de hidretos acoplada a espectrometria de fluorescência atômica (HG-AFS) [127].

De maneira geral, a geração de hidretos de antimônio depende dos seguintes fatores: tipo e concentração do ácido utilizado, agentes redutores, concentração do borohidreto de sódio, tempo de reação e eficiência no transporte dos hidretos até o atomizador. Os agentes redutores são comumente utilizados para fazer a redução do Sb(V) para Sb(III). A **Equação 4** mostra o potencial de redução de Sb(V) para Sb(III). Assim, como pode ser observado, a redução deve ser feita em meio ácido. Iodeto de potássio, L-cisteína, tioureia e brometo de potássio são os redutores mais utilizados [128].



O mecanismo da geração de hidreto atualmente mais aceito é o que foi proposto recentemente por D'Ulivo e colaboradores (2010 e 2011) [129,130]. De acordo com os autores, na geração de hidretos utilizando o borohidreto de sódio, há uma formação de complexos intermediários entre o analito-borohidreto, onde ocorre uma transferência gradual de átomos de hidrogênio desses complexos para o substrato do analito provocando a formação dos hidretos. Conforme a hipótese desses trabalhos, o mecanismo pode ser escrito simplificadaamente pelas **Equações 5 e 6**:



2.2.2 Espectrometria de fluorescência atômica

Dentre as técnicas utilizadas para determinação de elementos-traço nos últimos anos, a espectrometria de fluorescência atômica acoplada a um sistema gerador de hidretos tem se tornado a mais popular. Baixo custo operacional, simplicidade de equipamentos, ampla faixa de trabalho (de $\mu\text{g L}^{-1}$ a mg L^{-1}) e alta sensibilidade analítica [15,131] são características interessantes desta técnica. A sensibilidade analítica elevada se deve ao fato de que sinal de fluorescência atômica

tem um baixo *background*, que é a principal vantagem da AFS quando comparada a AAS [132,133]. Em virtude disto, os limites de detecção encontrados para Sb, por exemplo, são comparáveis aos obtidos pela ICP-MS e ETAAS [131].

Análises feitas por ET AAS precisam de modificadores químicos, têm elevado efeito de matriz e baixa frequência analítica. Determinações em ICP-MS, apesar de ser uma técnica multielementar, tem elevada manutenção operacional e consumo de argônio, além de em algumas análises apresentarem caso críticos de efeitos de matriz, que são características negativas dessa técnica. Além disso, os espectrômetros de AFS são relativamente mais baratos que os instrumentos de ETAAS e ICP-MS. Assim, a AFS representa uma alternativa interessante às técnicas de espectrometria de massa e atômica [125,134].

O equipamento de AFS é geralmente baseado no uso da fluorescência atômica não dispersiva e são equipados atualmente por lâmpadas de cátodo oco com descarga reforçada (BDHCs) como fonte de radiação. As espécies voláteis obtidas na geração de hidretos são separadas geralmente em um separador gás-líquido e transportadas por um gás de arraste para atomização e excitação em uma chama de difusão argônio-hidrogênio. Após atomização, os elétrons dos átomos do analito são excitados pela fonte de radiação e são promovidos para um nível mais alto de energia. Em seguida, ao retornar ao nível fundamental original, os elétrons emitem a energia que absorveram em forma de luz, dando origem ao fenômeno da fluorescência atômica [7]. A **Figura 1** apresenta um desenho esquemático, visto de cima, do sistema de detecção comum encontrado em instrumento de AFS.

A análise por AFS é extremamente afetada pela umidade. Na geração de hidreto, quando o gás de arraste transporta os hidretos do separador gás-líquido para célula de atomização, carrega também vapores de água. As gotículas de água espalham a radiação provinda da fonte. Este problema foi identificado por D'Ulivo (1995) ao propor um método sensível para determinação em nível traço de antimônio por HG-AFS. Um sistema de atomização em chama de argônio-hidrogênio miniaturizado foi proposto por ele para determinação de Sb em amostras certificadas, e o limite de detecção alcançado foi de 22 pg cm³ [135].

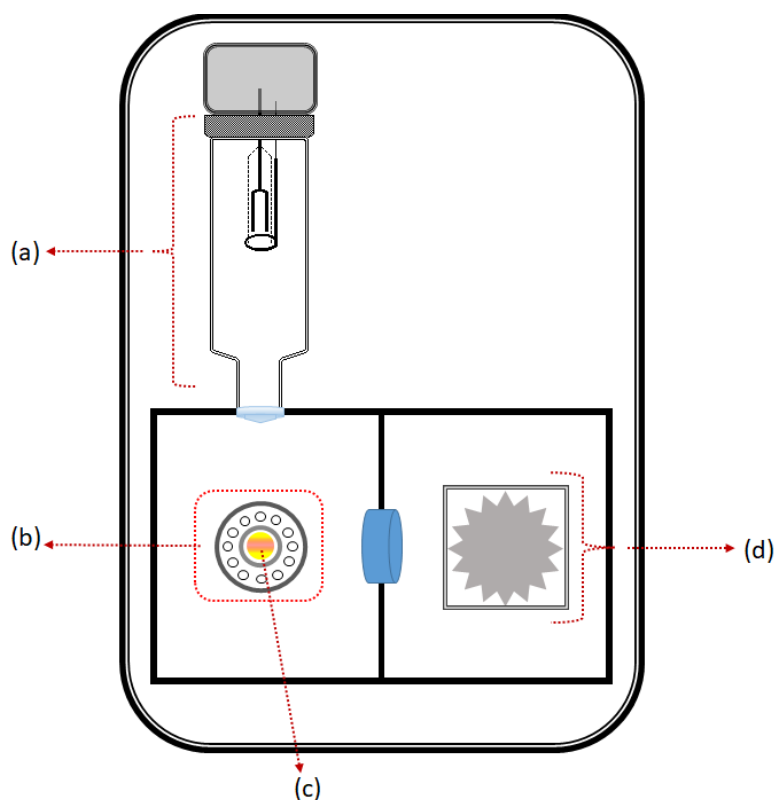


Figura 1 Ilustração do sistema de detecção do instrumento AFS. (a) lâmpada de cátodo oco, (b) atomizador, (c) chama de difusão argônio-hidrogênio e (d) fotomultiplicadora. (Adaptado) [15].

Metodologias interessantes para determinação/especiação de Sb em águas usando a técnica HG-AFS tem sido recentemente propostas. Wu e colaboradores (2007), determinaram Sb(III) e Sb(V) em águas naturais usando um sistema de pré-concentração acoplado a HG-AFS. O ditiocarbamato de pirrolidina de amônio (APDC) foi utilizado para pré-concentrar em pH 1 o Sb(III). Assim, para 12 mL de amostra um fator de enriquecimento de 17 foi obtido e frequência analítica de 24 amostras por hora. O limite de detecção do método foi de $2,3 \text{ ng L}^{-1}$ [136]. Um outro trabalho de especiação foi realizado por Wang e colaboradores (2014), Sb(III) e Sb(V) foram pré-concentrados em adsorvente de nanopartículas de óxido de titânio (TiO_2). Ácido cítrico e HCl foram usado para extração de Sb(III) e Sb(V), respectivamente. Um fator de enriquecimento de 20 foi alcançado e os limites de detecção foi de 10 ng L^{-1} para Sb(III) e 13 ng L^{-1} para Sb total [137]. No ano seguinte, Portugal e colaboradores (2015) desenvolveram um método automático para especiação de Sb inorgânico e trimetilantimônio (TMSb). As espécies orgânicas de Sb foram retidas numa coluna catiônica, enquanto o antimônio total era quantificado como Sb(III). Desta forma, os autores quantificaram Sb total, Sb total inorgânico e o Sb(III). O Sb(V) e o TMSb foram

estimados por diferenças entre as concentrações de Sb total inorgânico e Sb(III), e Sb total e Sb total inorgânico respectivamente. os limites de quantificação para Sb(III) e Sb(V) foi de $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$, e do TMSb foi de $0,13 \mu\text{g L}^{-1}$ [138]. Santos e colaboradores (2018), determinaram as espécies inorgânicas de Sb usando um sistema de fluxo contínuo. As variáveis tempo de pré-redução, concentração de ácido clorídrico e concentração de borohidreto de sódio foram otimizadas usando um planejamento fatorial completo seguido de uma matriz Doehlert. Após otimização, o método mostrou limites de detecção de 9 ng L^{-1} [139]

Essencialmente, a espectrometria de fluorescência atômica tem sido utilizada como técnica uni-elementar, pois geralmente os equipamentos mais utilizados empregam como fonte de radiação uma única lâmpada de cátodo oco. No entanto, alguns equipamentos apresentam a possibilidade acoplar duas ou mais lâmpadas de cátodo oco no sistema de detecção, que faz com que determinações multielementares sejam possíveis. Desta forma, é possível quantificar os elementos simultaneamente. Zhang e colaboradores (2011), determinaram arsênio, bismuto telúrio e selênio totais por HG-AFS. Após otimização do sistema, os limites de detecção para As, Bi, Te e Se foram de $0,0152 \mu\text{g g}^{-1}$, $0,0080 \mu\text{g g}^{-1}$, $0,0022 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,0068 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente [140]. Zhang e Duan (2014), propuseram um método para a determinação simultânea de mercúrio inorgânico e antimônio em ligas à base de chumbo por geração de hidreto duplo canal AFS. Os limites de detecção do método foram de $0,17 \mu\text{g L}^{-1}$ para Hg(II) e $1,66 \mu\text{g g}^{-1}$ para Sb(III) [141].

2.3 Planejamento experimental

Procedimentos experimentais podem ser otimizados empregando o tradicional método univariado, em que os fatores (ou variáveis) são otimizados utilizando-se o clássico sistema de uma variável por vez. Assim, este tipo de trabalho, que envolve um grande número de experimentos, pode fornecer condições que permitem um valor otimizado da resposta. Entretanto, por negligenciar a interação entre as variáveis, o resultado obtido não necessariamente corresponde às condições que levam ao ótimo verdadeiro [142]. A otimização fatorial, por outro lado, permite avaliar simultaneamente o efeito de um grande número de variáveis, a partir de um número reduzido de ensaios experimentais. Desta última forma, os resultados analíticos são

melhor sistematizados e compreendidos. O número de publicações empregando essa metodologia tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, pois características como melhor estudo das variáveis, melhor eficiência e menor custo por análise a destacam em relação ao procedimento tradicional [143,144].

Nesse contexto, os procedimentos multivariados têm sido empregados com frequência em otimizações de métodos de análises químicas nos últimos anos [145,146]. Costumeiramente, no planejamento de experimentos, inicialmente é feito a identificação dos fatores significativos para o processo através de um planejamento fatorial completo de dois níveis, que fornece modelos lineares [147,148]. Após isso, a otimização final é realizada através do estabelecimento de modelos quadráticos aplicando metodologias de superfície resposta (RSM). Para isso, pode-se recorrer a um planejamento fatorial completo de três níveis, composto central, matriz Doehlert e planejamento Box-Behnken, que irão fornecer valores de máximo ou de mínimo do domínio experimental pesquisado [145]. Essas ferramentas quimiométricas permitem uma melhor caracterização da importância das variáveis experimentais nos métodos estabelecidos, fato este que é muito relevante para métodos automáticos [149].

2.3.1 Avaliação dos fatores

A principal técnica quimiométrica empregada tanto para otimização quanto para investigação da influência dos fatores é o planejamento fatorial completo de dois níveis. Através de cálculos de efeitos dos fatores e de suas interações, ela permite avaliar como os fatores elencados influenciam na resposta. O número de experimentos necessários para o desenvolvimento desse planejamento é determinado pela expressão $n = 2^k$, sendo n o número de experimentos e k o número de fatores [150]. Conforme Ferreira (2015), essa expressão torna possível todas as combinações envolvendo todos os fatores em dois níveis, cuja identificação dos termos é - 1 para o nível inferior, e + 1 para o nível superior. Para determinação do erro experimental, no entanto, é necessário repetições autênticas de todo o planejamento, o que implica em duplicar a quantidade de experimentos efetuados. Uma solução para isso é realizar experimentos com repetições no ponto central, ou seja, valor codificado (0) [144]. A **Tabela 7** mostra uma matriz de planejamento de 3 fatores, por exemplo.

Tabela 7 Exemplo de matriz de planejamento fatorial completo (2^3).

Experimentos	Fator A	Fator B	Fator C	Resposta
1	-1	-1	-1	Y1
2	-1	-1	1	Y2
3	-1	1	-1	Y3
4	-1	1	1	Y4
5	1	-1	-1	Y5
6	1	-1	1	Y6
7	1	1	-1	Y7
8	1	1	1	Y8
9	0	0	0	Y9
10	0	0	0	Y10
11	0	0	0	Y11

Planejamentos completos de dois níveis com mais de 4 fatores são praticamente inviáveis de serem executados, tendo em vista o elevado número de experimentos. Para esses casos, modelos fatorial fracionários ($2^k - x$), onde x é a redução do número de experimentos, são mais indicados [150]. Assim, o resultado do planejamento fatorial de dois níveis pode ser avaliado por ferramentas matemáticas como cálculos dos efeitos, gráficos de pareto e médias marginais [144].

2.3.2 Planejamento Box-Behnken

A matriz Box-Behnken é uma das metodologias de superfícies de resposta mais conhecidas para otimizar experimentos, sendo proposta por Box e Behnken em 1960 [151]. O desenho desse planejamento pode ser representado por uma figura geométrica em forma de um cubo, onde suas coordenadas da matriz correspondem aos pontos médios nas arestas e o ponto central está exatamente no centro do cubo ilustrado na conforme mostra a **Figura 2**.

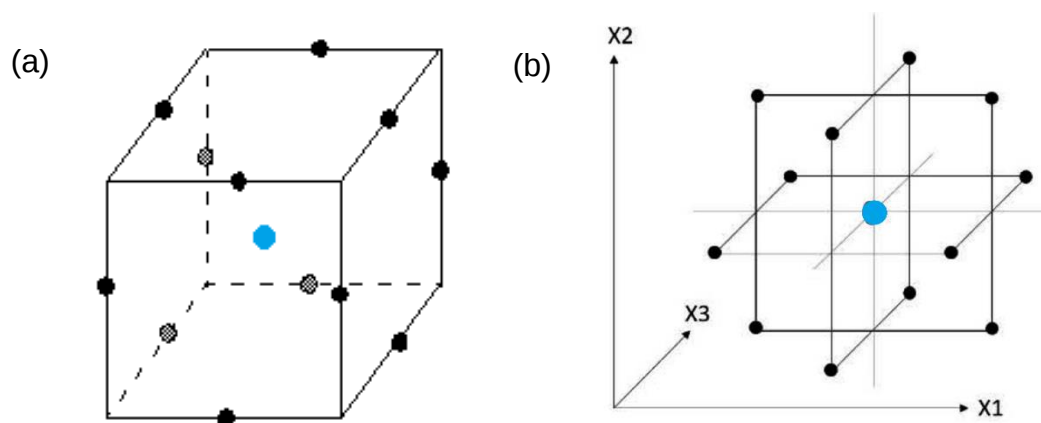


Figura 2 Representação gráfica dos pontos experimentais de um planejamento Box-Behnken: (a) ponto no cubo, (b) pontos em cartesiano.

De maneira geral, a matriz Box-Behnken requer poucas combinações de fatores sendo estes estudados sempre em três níveis - 1, 0 e + 1, e o número de experimentos (N) necessários para sua execução é dado por $N = k^2 + k + C_0$, onde k representa o número de variáveis e C_0 o número de pontos centrais [152]. A **Tabela 8** mostra um exemplo de matriz de três fatores. O erro é estimado pelas réplicas do ponto central, da mesma forma que é efetuado no planejamento completo de dois níveis.

Após tratamento matemático adequado obtidos via software, é possível obter um modelo que expressa a relação linear e quadrática existente entre os fatores. Essa função é representada genericamente na **Equação 7**, onde R é a resposta analítica; b_0 o termo independente; b_1 , b_2 e b_3 são coeficientes lineares; b_{11} , b_{22} e b_{33} são coeficientes quadráticos; b_{12} , b_{13} e b_{23} são os coeficientes correspondentes às interações e os fatores são representados por X_1 , X_2 e X_3 .

$$R = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}(X_1)^2 + b_{22}(X_2)^2 + b_{33}(X_3)^2 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 \quad (7)$$

Experimentos da matriz Box-Behnken possuem menos pontos do que experimentos centrais compostos (CCD) e por isso sua execução é menos laboriosa com o mesmo número de fatores, sendo essa a sua principal vantagem. Outra vantagem é o fato de que sua matriz de planejamento não inclui a possibilidade de que os fatores serem estudados em nível máximo ou mínimo como ocorre no planejamento 3^k . Assim, esses planejamentos são úteis para evitar experimentos

sejam realizados sob condições extremas para os quais resultados insatisfatórios possam ocorrer. [144]. Dessa forma, os coeficientes de primeira e segunda ordem podem ser estimados eficientemente [152].

Tabela 8 Matriz de planejamento Box-Behnken para três fatores.

Experimentos	A	B	C	Resposta
1	-1	-1	0	Y1
2	+1	-1	0	Y2
3	-1	+1	0	Y3
4	+1	+1	0	Y4
5	-1	0	-1	Y5
6	+1	0	-1	Y6
7	-1	0	+1	Y7
8	+1	0	+1	Y8
9	0	-1	-1	Y9
10	0	+1	-1	Y10
11	0	-1	+1	Y11
12	0	+1	+1	Y12
13	0	0	0	Y13
14	0	0	0	Y14
15	0	0	0	Y15

2.4 Considerações sobre sistemas automáticos de análise química

Procedimentos de análises químicas usuais são comumente desenvolvidos e aplicados em laboratórios e centros de pesquisas de todo o mundo. Nesse sentido, procedimentos analíticos que se destacam apresentam características interessantes do ponto de vista da química verde. Segundo Trojanowicz (2008), procedimentos que

tenham menor consumo de insumos, baixa geração de resíduos, maior sensibilidade, menor custo, frequência de amostragem adequada, menor risco de intoxicação do analista e de fácil execução, são fortemente requisitados dada a alta demanda das análises [153]. Estas características são largamente encontradas em métodos automáticos de análise, e estão cada vez mais presentes e competitivos em química analítica.

Nos últimos anos, uma parte considerável da química analítica tem-se dedicado ao desenvolvimento de sistemas automáticos, bem como de novas metodologias e adaptações para esse fim são cada vez mais requeridas. Os analisadores automáticos podem ser classificados em três grupos: analisadores automáticos discretos ou em batelada; analisadores automáticos robotizados; analisadores automáticos em fluxo. Uma leitura mais detalhada pode ser realizada em trabalhos voltados a composição, funcionamento e características desses sistemas [154,155].

Para Kolev e Mckelvie (2008), apesar da importância dos métodos em batelada e dos métodos robotizados, na implementação e automatização de procedimentos de análises, os métodos em fluxo registram um acentuado crescimento, tanto em termos de divulgação científica, quanto em áreas de aplicação industrial e acadêmica [156]. Os analisadores automáticos em fluxo (FIA) se destacaram devido a apresentar elevada frequência analítica, alta sensibilidade, baixo consumo de reagentes e amostra, baixa geração de resíduo, bem como facilidade de automação. Desta forma, uma boa parte dos procedimentos automáticos de análise são realizados por métodos em fluxo [157].

Após o primeiro analisador automático em fluxo, desenvolvido por Leonard Skeggs em 1957, inúmeros analisadores têm sido propostos conforme mostra a **Figura 3**. Análise por injeção em fluxo (do inglês: flow injection analysis - FIA) em 1975 [158], análise em fluxo monossegmentado (monosegmented flow analysis - MSFA) em 1985 [159], análise por injeção sequencial (sequential injection analysis - SIA) em 1990 [160], análise em fluxo multicomutado (multicommutation in flow analysis - MCFA) em 1994 [161], análise em fluxo utilizando multiseringas (Multisyringe flow injection analysis – MSFIA) em 1999 [162] e o análise em fluxo-batelada (flow-batch analysis - FBA) [163]. Cada um desses sistemas apresentam características peculiares como as diferentes combinações de características, como

o tipo de confluência, bombeamento/ aspiração de amostras e reagentes e sua segmentação. Maiores detalhes desses sistemas como suas principais aplicações e evolução histórica, podem ser encontrados em artigo de revisão publicados recentemente [16,164–168].

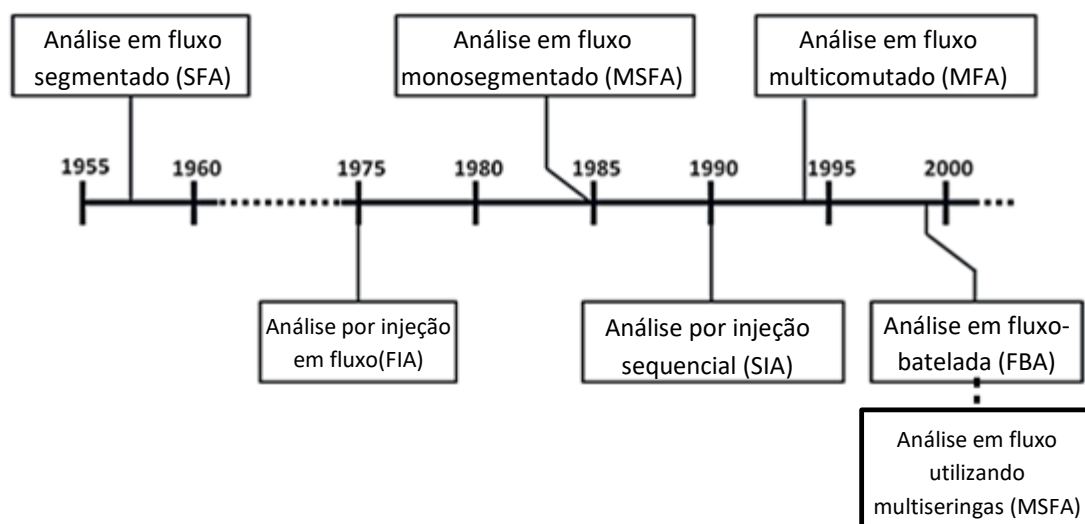


Figura 3 Linha do tempo para os principais analisadores automáticos em fluxo desenvolvidos.

Basicamente, os sistemas em fluxo exibem uma configuração geral comum, que é mostrada na **Figura 4**. Geralmente, a propulsão dos fluidos é realizada por uma bomba peristáltica, embora vários outros mecanismos possam ser utilizados com esta finalidade, como as bombas pistão (**Figura 4 (a)**). Injetor proporcional ou mais modernamente válvulas solenóides ou rotatórias fazem o controle adequado das alíquotas de reagentes e amostras adicionadas ao sistema (**Figura 4 (b)**). Para proporcionar a mistura, digestões ou separações entre amostras e reagentes, são utilizadas bobinas de reação, que podem ser modificadas conforme seja o interesse do processo (**Figura 4 (c)**). O sistema de detecção pode se encontrado das mais diversas maneiras conforme a necessidade da análise (**Figura 4 (d)**).

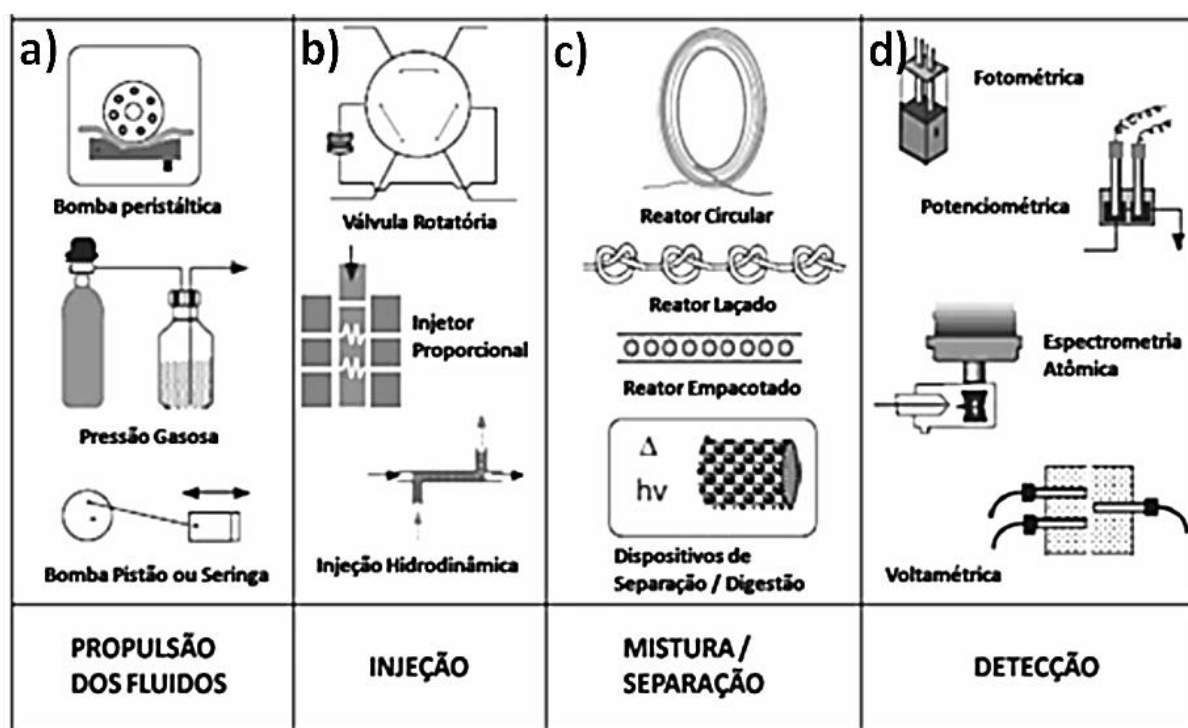


Figura 4 Configuração geral de um sistema de análise em fluxo simples. (a) exemplos de sistemas para propulsão dos fluidos, (b) exemplos de sistemas de injeção, (c) exemplos de sistemas de mistura e (d) exemplos de detectores.

2.4.1 Sistemas automáticos em fluxo-batelada

O sistema automático em fluxo-batelada (FBA) alia as vantagens dos sistemas em fluxo com as dos sistemas em batelada, permitindo fácil automação de procedimentos multi-etapas e multi-reagentes. Assim, ele reúne as melhores características analíticas dentre os sistemas automáticos, pois devido à sua configuração de construção, a dispersão é praticamente inexistente, o que proporciona menores limites de detecção e elevadas taxa de amostragens. Quando comparado aos outros sistemas automáticos descritos, o FBA é bastante versátil pois permite a preparação de soluções de calibração on-line e, por não usar fluido carregador, gera pouco resíduo [16].

Uma forma esquemática de um sistema de análise flow-batch (FBA) pode ser observado na **Figura 5**, com todos os componentes estruturais comumente utilizados para várias operações unitárias no processo de análise. O sistema é constituído pelas seguintes partes:

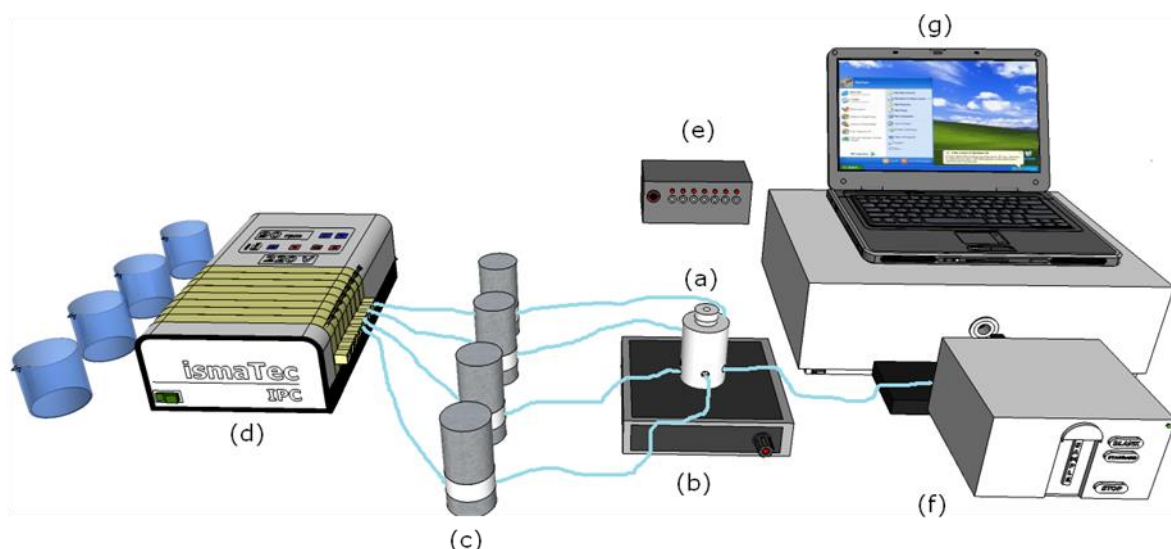


Figura 5 Esquema simplificado com os componentes principais de um sistema fluxo batelada. (a) câmara de mistura; (b) agitador magnético; (c) válvulas solenoides de três vias; (d) bomba peristáltica; (e) acionador de válvulas; (f) detector; (g) computador.

- **Câmara de mistura (Figura 5 (a)):** Um das principais características do FBA é a câmara de mistura ou câmara reacional. É constituída por uma pequena peça cilíndrica, geralmente de Teflon® ou acrílico, com volume interno variável de 0,5 a 2,0 mL. No interior da câmara ocorre a maior parte dos procedimentos analíticos, como por exemplo, a adição, homogeneização, pré-tratamento, reações, acondicionamento dos fluidos, preparo de soluções de calibração, podendo ter também detecção do analito, etc. A eficiente mistura dos fluidos pode ser alcançada utilizando-se uma pequena barra magnética em seu interior, em que o movimento dessa barra é feito pelo campo gerado no acionamento de um agitador magnético (**Figura 5 (b)**);

- **Adição dos fluidos:** no FBA, volumes predefinidos e precisos de reagentes e amostras, adicionados ou aspirados da câmara de mistura, são controlados através do acionamento das válvulas solenoides (**Figura 5 (c)**). Alguns outros dispositivos de comutação podem ser empregados, como válvulas pinça, válvulas SIA, microbombas (que executam a função da válvula e do sistema de propulsão), etc;

- **Propulsão dos fluidos:** para efetuar a propulsão dos fluidos no FBA, geralmente é utilizado uma bomba peristáltica (**Figura 5 (d)**), devido a sua capacidade de impulsionar os líquidos por vários canais simultaneamente, mantendo a vazão constante.

- Detecção: o dispositivo empregado para detecção (**Figura 5 (f)**) vai depender do método empregado na análise, podendo até, caso necessário, acoplar o detector à câmara fazendo a chamada detecção “on-line”;
- Sistema de controle: todo o controle do sistema é realizado com o auxílio do computador (**Figura 5 (g)**), garantindo velocidade e precisão nas análises. Para o controle das válvulas é utilizado um acionador de válvulas (**Figura 5 (e)**).

Por aliar as características intrínsecas dos analisadores em fluxo (alta velocidade analítica, baixo consumo de amostra e reagentes, baixo custo de montagem e facilidade de automatização) e dos analisadores em batelada (universalidade de aplicações, robustez e versatilidade), o analisador fluxo-batelada apresenta parâmetros de desempenho superiores, tais como: altas precisão e velocidade analítica, baixo custo por análise, baixo consumo, manipulação e contaminação de reagentes e amostras e geração de pouco resíduo para o meio ambiente.

O sistema FBA foi inicialmente proposto para análises de titulação empregando o método de Fibonacci como forma de detectar o ponto final [163], entretanto, e por suas excelentes características analíticas, notou-se que devido as suas configurações aliam as melhores características dentre os sistemas automáticos, esse sistema possibilita a aplicação em outros procedimentos analíticos. Assim, diversas metodologias analíticas têm sido propostas explorando o uso do sistema em fluxo-batelada.

Nesse sentido, algumas aplicações foram feitas empregando a metodologia FBA como: estratégias de pré-tratamento de amostras, como extração líquido-líquido [169,170] e digestão [171], análises screening [172], titulações [173] e titulações baseadas em filmes digitais [174], adição de padrão [175] e abordagens explorando quimiluminescência [176,177], fluorescência [170], turbidimetria [178], nefelometria [179] e fotometria [180] já foram desenvolvidas. Alguns trabalhos acoplaram a detecção, utilizando uma webcam para captura das imagens digitais, à câmara de mistura [181,182]. Recentemente, a câmara de mistura foi utilizada para extração com nanopartículas magnéticas [183].

Convém ressaltar que o sistema fluxo-batelada até o presente momento foi empregado tanto em preparo de amostras com em determinações utilizando a câmara de mistura para misturar, homogenizar e promover reações. No entanto, esse sistema

ainda não foi utilizado como um sistema de separação de mistura, na forma de um separador gás/líquido com um gerador de hidretos, por exemplo. Assim, esta interessante possibilidade de aplicação se mostra como uma lacuna na concepção do sistema fluxo-batelada até o presente momento.

2.4.2 Sistemas automáticos para determinação de antimônio

Os sistemas automáticos mais empregados para a determinação e especiação de antimônio nas mais variadas matrizes são os sistemas por injeção em fluxo (FIA) e o sistema por injeção multiseringa (MSFIA), conforme mostra a **Tabela 9**. O sistema de fluxo contínuo (CFA) aparece com uma terceira estratégia automática mais empregada. O acoplamento do sistema automático com a técnica de detecção favorece dentre outras características, a velocidade analítica.

A frequência analítica é uma das características que se destacam em um sistema automático. Dentre os trabalhos iniciais de determinação de Sb apresentados na **Tabela 9**, Semenova e colaboradores (2005) propuseram o MSFIA como o primeiro sistema automático com frequência analítica adequada em análises de rotina de determinação e especiação de Sb total e Sb(III), apresentando um total de 18 análises por hora [184]. Santana e colaboradores (2016), propuseram o mesmo sistema aplicado à determinação de antimônio, arsênio e selênio em amostras de amendoim. Este sistema permitiu alcançar frequência analítica de 45 determinações por hora de Sb, no entanto, este sistema só foi empregado na determinação de Sb total [185]. Para especiação, o sistema proposto por Pacheco e colaboradores (2007), foi o que relatou maior velocidade de análise, um total de 23 determinações por hora [186].

A geração de hidreto (HG) é de fato a técnica mais empregada na montagem desses sistemas, juntamente com a fluorescência atômica (AFS) como técnica espectroanalítica mais utilizada na sua detecção. Outras técnicas como espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de emissão ótica por plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de massa por plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e espectrometria UV-Vís necessitam de procedimentos de extração/pré-concentração para atingir o nível de concentração em que o Sb é encontrado.

Tabela 9 Sistemas automático para determinação de Sb encontrados entre 2001 e 2017.

Técnica	Amostras	Limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Observação	Ano	Ref
FIA-HG-AAS	Tecido e sangue de hamster	1,0 Sb(III) e 0,5 Sb(V)	Extração/pré-concentração de Sb(III) e Sb(V)	2001	[187]
CFA-HG-AFS	Leite	0,003 Sb total		2003	[188]
CFA-HG-GFAAS	Água do mar	0,005 Sb(III) 0,010 Sb total	pré-concentração de Sb(III)	2004	[189]
MSFIA-HG-AFS	Águas certificadas e concentrado de chumbo	0,08 Sb(III) e Sb total		2005	[184]
FIA-HG-ICP OES	Urina	0,07 Sb(III) e Sb(V)	Extração/pré-concentração de Sb(III)	2007	[186]
FIA-HG-GPCL ^a	Águas e solos	0,18 Sb total	Pré-concentração em baixa temperatura;	2010	[190]
FIA-HG-ICP-MS	Água do mar, água de lago, água de rio	0.013 Sb(III) e 0.021 Sb(V)	Extração/pré-concentração de Sb(III) e Sb(V)	2011	[96]
MSFIA-HG-AFS	Água do mar, água potável e água subterrânea	0,03 Sb(III) e Sb(V); 0,13 TMSb		2015	[138]
MSFIA-HG-AFS	Amendoin	0,04 Sb total		2016	[185]
Lab-in-syringe-UV-Vis	Águas e drogas anti-Leishmaniose	1,8 Sb total	Extração/pré-concentração	2016	[191]
MSFIA-HG-AFS	solos	0,9 ng g ⁻¹ Sb(III), Sb(V), TMSb(V) e Sb total		2017	[192]

^aGPCL - quimiluminescência da fase gasosa; ^b

Os procedimentos de pré-concentração são realizados através de colunas contendo algum adsorvente para antimônio. Esses sistemas geralmente empregam esses procedimentos antes da geração do hidreto, ou convenientemente podem também fazer pré-concentração do analito no próprio atomizador [189]. Por apresentar uma alta sensibilidade, o uso da AFS dispensa procedimentos de pré-concentração e bons limites de detecção são alcançados.

Uma característica negativa comum aos sistemas automáticos que trabalham com geração de hidretos, reside no fato de que para promover a liberação do analito da matriz, após a mistura de reagentes e amostras em bobinas de reação, estes sistemas necessitam de um separador gás-liquido em sua composição. Assim, antes da etapa de detecção, há uma diluição dos hidretos formados com o gás de arraste, hidrogênio produzido da reação entre o borohidreto de sódio com ácido clorídrico e outras substâncias concomitantemente produzidas nessa reação.

3 DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO AUTOMÁTICO FLUXO BATELADA PARA ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO INORGÂNICO EM ÁGUAS

Antimônio, a exemplo do arsênio, não tem função biológica conhecida e é facilmente acumulado no organismo podendo causar diversos problemas à saúde humana dentre eles, como irritação respiratória, pneumoconiose, manchas de pele de antimônio, sintomas gastrointestinais, cardiotoxicidade e até pancreatite. Esse elemento químico é largamente empregado em fabricação de vidro, cerâmica, tintas, têxteis, bateria, metalurgia e borracha, como agente clarificador, como pigmento em corantes e tintas, ou em aditivos. Além disso, sua propriedade de retardante de chama é destaque nas aplicações industriais. Devido à sua aplicação na indústria de polímeros de polietilenotereftalato, diversos estudos têm relacionado a presença deste metal em conteúdos internos de bebidas, comidas e água mineral.

Em sistemas aquáticos, o antimônio é encontrado nas formas inorgânicas Sb(III) e Sb(V), sendo estas formas as mais tóxicas. Os glóbulos vermelhos são sítios ativos para Sb(III), sendo esta a principal explicação por essa forma de antimônio apresentar 10 vezes mais toxicidade que a Sb(V). Estas espécies estão disponíveis no ambiente, em concentrações em nível traço, e basicamente por processos naturais como intemperismo de rochas e escoamento de solo e como resultado principalmente das atividades antropogênicas [2].

Técnicas analíticas de sensibilidade adequada como a geração de hidretos e fluorescência atômica são, altamente, recomendadas nas determinações e especiações de antimônio. Como este metal está presente em nível traço de concentração, o uso da geração de hidreto é extremamente viável pois promove a eliminação de matriz além de possibilitar praticamente que 100% do analito chegue a detecção.

O sistema automático fluxo-batelada oferece uma configuração muito interessante em procedimento de especiação. Os reagentes e amostras podem ser convenientemente adicionados a câmara de mistura, e esta quando fechada, pode funcionar como um separador gás-líquido, sendo portanto um gerador de hidretos. Assim, dada a importância da determinação e identificação das espécies de antimônio em água, juntamente com a necessidade de análises rápidas, robustas e

reprodutíveis, este experimental propõe um sistema automático fluxo-batelada para determinação e especiação de antimônio em amostras de águas.

3.1 Experimental

3.1.1 Reagentes, soluções e amostras

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico. As soluções foram preparadas com água ultrapura (condutividade $< 0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$) obtida de um purificador Millipore Direct - Q5 UV (EUA). O material de vidro foi vigorosamente lavado com 10% v v⁻¹ de HNO₃ e lavado com água ultra-pura antes de ser usado. As soluções estoque padrão de 1.000,0 mg L⁻¹ Sb(III) e Sb(V) foram preparadas por dissolução de quantidades adequadas de SbCl₃ e SbCl₅ em uma solução de HCl a 3% v v⁻¹, e armazenados a 4 °C.

As soluções padrão de trabalho foram preparadas diariamente a 3% (v v⁻¹) de HCl (Merck, Alemanha) por diluição adequada da solução estoque. A solução de NaBH₄ foi preparada diariamente dissolvendo-se uma quantidade adequada de borohidreto de sódio (Fluka, Alemanha) em NaOH 0,1 mol L⁻¹ (Scharlau, Espanha) e posteriormente filtrada através de uma membrana de nylon com tamanho de poro de 0,45 μm (Lida, EUA). Um agente pré-redutor KI / AA [iodeto de potássio a 50% m/v (Synth, Brasil) e ácido ascórbico a 10% m v⁻¹ (Sigma-Aldrich, EUA)] foi preparado diariamente para reduzir Sb(V) a Sb(III). O ácido ascórbico foi utilizado para evitar o excesso de interferência do I₃⁻. Um agente macarante para Sb(V) (solução de citrato de sódio a 10% m v⁻¹) foi preparado por dissolução (Merck, Alemanha) em água deionizada.

As amostras de águas foram adquiridas na cidade de Maceió, Alagoas, cujos tipos foram de água mineral potável (adquiridas de supermercado local), água da torneira (do laboratório da UFAL), água de lago (da lagoa Mundaú) e água do mar (da praia de Ponta Verde). Todas as amostras foram filtradas através de filtros de membrana de acetato de celulose de 0,45 μm , acidificadas até 3% com HCl e mantidas sob refrigeração em garrafas de vidro a 4 °C. Para quantificação de Sb(III), as amostras foram aferidas a 5% com citrato de sódio.

3.1.2 Desenvolvimento do sistema automático

Equipamentos e montagem

A montagem do sistema automático fluxo batelada foi realizada conforme as descrições a seguir. Uma câmara de mistura em politetrafluoretileno (PTFE) foi empregada para a adição dos fluidos, mistura, homogeneização, formação dos hidretos e separação gás-líquido, denominada câmara flow-batch separador gás-líquido (*FB-GLS chamber*). Esta câmara possui seis canais de entrada e um canal de saída para os fluidos na parte inferior, a abertura na parte superior foi utilizada para a saída dos hidretos. O volume interno foi de 3 mL e em seu interior uma pequena barra magnética em PTFE foi empregada para promover a agitação mecânica das soluções, e sua rotação foi feita com auxílio de um agitador magnético (Barnstead / Thermoline, modelo 546410-16, EUA). Uma membrana de secagem (Perma Pure Inc., EUA) foi conectada à saída da câmara *FB-GLS* para impedir que a umidade fosse arrastada para o AFS e provocasse a extinção da intensidade de fluorescência atômica. Ar sintético (Gás Linde, Brasil) foi empregado como gás de purga dessa membrana ($2,5 \text{ L min}^{-1}$).

Para propulsão dos fluidos, foi empregada uma bomba peristáltica Gilson® (modelo Minipuls 3, França) equipada com 8 canais e 6 roletes e seis válvulas solenoides de três vias (Cole Parmer, modelo EW-01540-13, EUA). Os tubos de transporte (1,0 mm d.i., Teflon®) foram usados como linhas de transmissão dos fluidos. O argônio foi utilizado como gás de arraste, e para o controle de sua vazão um rotâmetro de baixa vazão (Supelco Analytical, 0 – 65,0 mL de vazão) foi utilizado antes da sua entrada na câmara fluxo-batelada. Para minimizar o volume morto e consequente dispersão do hidreto de antimônio após a saída da câmara de mistura, o caminho até a entrada do espectrômetro de fluorescência atômica foi mantido o mais curto possível com 18,0 cm de comprimento e 5,0 mm de diâmetro interno.

Um notebook foi conectado a uma interface (USB6009, National Instruments®, USA) para controle do sistema fluxo-batelada. Um acionador de válvulas foi construído para controle da abertura e fechamento das válvulas solenoides. Este equipamento é baseado em um circuito integrado ULN2803, fabricado pela Toshiba, que é um arranjo de oito transistores do tipo *Darlington*, apropriados para suportar alta tensão e

corrente. Até 8 portas de saída podem ser controladas individual ou simultâneamente por esse dispositivo. A **Figura 6** mostra o diagrama esquemático da ligação entre o notebook, a interface e o acionador de válvulas. As válvulas solenoides são alimentadas com uma tensão de 12 V, e são acionadas quando o ULN2803 recebe uma tensão superior a 3,8 V em suas portas de entrada, gerando uma corrente de 150 mA nas portas de saída, onde estão conectadas as válvulas.

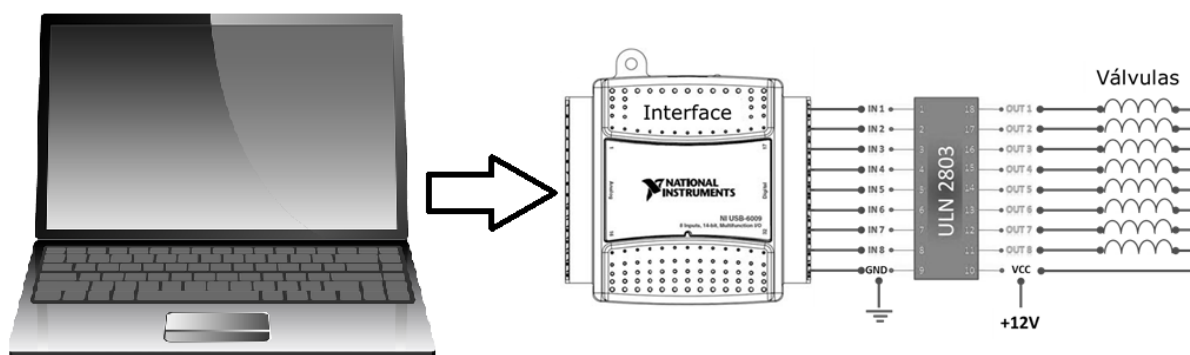


Figura 6 Diagrama esquemático da ligação entre o notebook, a interface NI USB-6009 e o acionador de válvulas.

Um espectrômetro de fluorescência atômica (AFS) (PS Analytical Millennium System, Kent UK) foi empregado para as medições analíticas. Este instrumento possui uma lâmpada de cátodo oco de antimônio (Photron Super Lamp, Victoria, Austrália) como fonte de radiação que funciona 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 de fluorescências obtidos durante as medidas foram analisados através da altura do pico. A **Tabela 10** mostra os parâmetros operacionais do AFS. Para a manutenção da chama de difusão de hidrogênio, necessária para a atomização os hidretos gasosos, soluções de HCl (2 mol L^{-1}) e NaBH_4 (1% m/v) foram bombeadas continuamente para produzir o gás hidrogênio.

Acoplando todos os componentes citados, o sistema automático é então caracterizado. A **Figura 7** mostra uma foto do sistema automático fluxo-batelada desenvolvido para a análise de determinação e especiação de antimônio inorgânico.

Tabela 10 Parâmetros operacionais para o espectrômetro de fluorescência atômica.

Parâmetros	Valores
Comprimento de onda (nm)	217,6
Ganho	100
Corrente primária (mA)	17,5
Corrente secundária (mA)	15,0
HCl (mol L ⁻¹)	2,0
NaBH ₄ % (m v ⁻¹)	1,0
Vazão HCl (mL min ⁻¹)	9,0
Vazão NaBH ₄ (mL min ⁻¹)	4,5
Vazão do ar sintético (L min ⁻¹)	2,5

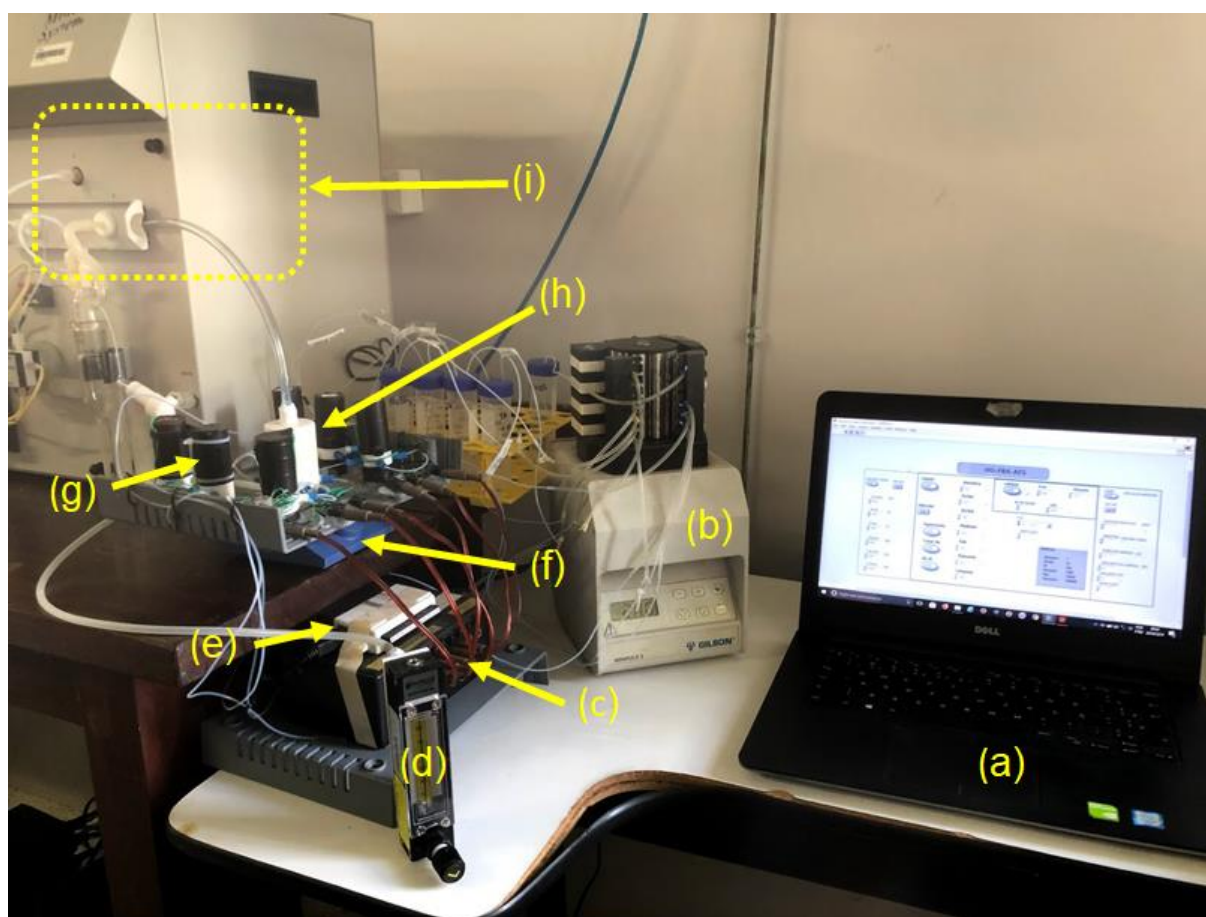


Figura 7 Fotografia representativa do sistema em fluxo-batelada desenvolvido. (a) Notebook; (b) bomba peristáltica; (c) acionador de válvulas; (d) rotâmetro; (e) interface USB; (f) agitador magnético; (g) válvulas solenoides; (h) câmara de mistura; (i) AFS.

Desenvolvimento do programa de controle

Um programa para controle e gerenciamento do sistema automático proposto foi desenvolvido em *software* de linguagem de programação gráfica LabVIEW 2013®. A interface do programa de controle foi desenvolvida de forma que todas as etapas e procedimentos da análise possam ser configuradas de forma simples e intuitiva, conforme mostrado na **Figura 8**.

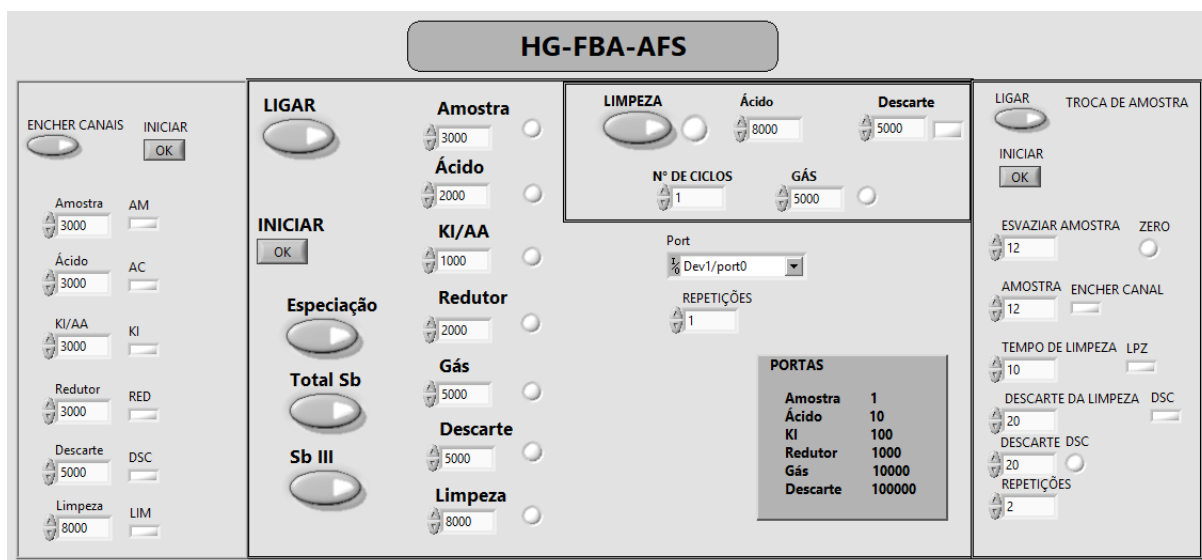


Figura 8 Interface de controle do sistema automático fluxo-batelada desenvolvido.

O programa desenvolvido funciona baseado no tempo de acionamento, em milissegundos, das válvulas solenoides. Baseado nesse tempo, e na rotação da bomba peristáltica, é possível contabilizar o volume de fluido movimentado. Assim, o tempo de abertura das válvulas é proporcional aos volumes adicionados na câmara de mistura. Para isso, é realizado um estudo prévio de calibração em cada válvula solenoide, que será discutido em maiores detalhes no próximo tópico.

O sistema possui seis válvulas, onde cinco delas são empregadas para adição de amostra, ácido clorídrico, solução pré-redutora (iodeto de potássio e ácido ascórbico), redutor (borohidreto de sódio), gás de arraste (argônio) e uma para o procedimento de descarte dos fluidos da câmara. Para o acionamento de cada válvula, o tempo correspondente a sua abertura deve ser inserido abaixo de sua denominação correspondente.

A limpeza da câmara de mistura é feita por adição de ácido clorídrico, agitação e descarte, seguido pela abertura da válvula do gás de arraste para retirada de todo vapor químico existente na câmara e no sistema de detecção. Desta forma, o usuário pode programar, de forma automática, quantos ciclos de limpeza deseja que sistema efetue. Após limpeza e antes da análise, o usuário pode realizar o preenchimento dos canais utilizando o menu “ENCHER CANAIS” e fornecer o tempo para cada fluido, assim como tempo de limpeza da câmara de mistura após esse enchimento. Desta forma, o sistema ficará pronto para análise, pois canais entre as válvulas e a câmara de mistura estão cheios. Convenientemente, o usuário também pode trocar de amostras utilizando o menu “TROCA DE AMOSTRA”, e inserir os tempos correspondentes a essa troca.

Assim, o funcionamento do programa foi dividido em três partes de programação a critério do usuário. Na primeira parte, é feita marcando na interface o ícone correspondente a “Especiação”. Nessa parte, Sb total e Sb(III) são determinados, o Sb(V) é obtido pela diferença entre as duas primeiras determinações. Na segunda parte, apenas o Sb total é quantificado. E na terceira parte, apenas o Sb(III) é determinado. Repetições de cada análise podem ser feitas marcando-se no menu “Repetições” o número de replicatas desejadas. Desta maneira, o sistema pode ser utilizado para estudos de especiação de antimônio inorgânico, bem como determinações de Sb total e Sb(III) separadamente.

Adicionalmente, como todos volumes adicionados ou retirados da câmara *FB-GLS* são proporcionais aos tempos de ativação das válvulas solenoides, um estudo da vazão dos fluidos que passam por cada válvula precisou executado. Assim, o programa também possibilita o estudo dessa vazões através da interface apresentada na **Figura 9**.



Figura 9 Interface do programa para realizar o estudo de calibração das válvulas solenoides.

3.1.3 Procedimento automático

O procedimento analítico automático para especiação de antimônio inorgânico em águas, consiste na quantificação de Sb total após redução de Sb(V) a Sb(III) utilizando iodeto de potássio (KI) / ácido ascórbico (AA) como agente pré-redutor. Citrato de sódio foi empregado como agente mascarante para Sb(V) na determinação de Sb(III). A concentração de Sb(V) foi estimada por diferenças de concentração entre Sb total e Sb(III).

O sistema proposto está representado através de um diagrama esquemático na **Figura 10**. Primeiramente, a bomba peristáltica (BP) e o agitador magnético (AM) são inicialmente ligados, as válvulas solenoides V1, V2, V3 e V4 estão desligadas, e os fluidos correspondentes a amostra, HCl, KI/AA e NaBH₄ são bombeados pelos canais e redistribuídos aos seus respectivos reservatórios. Em seguida, as válvulas solenoides da amostra ou solução padrão (V1), do HCl (V2), da solução pré-redutora (KI/AA) e do redutor (NaBH₄) são simultaneamente acionadas durante um 3,0 s para preencher os canais entre as válvulas e a câmara *FB-GLS*. Na sequência, o descarte é feito acionando a válvula V6 durante 5,0 segundos, e a câmara é esvaziada. Finalmente, o procedimento de limpeza é realizado. Nessa etapa, a válvula V2 é acionada por 8,0 s, adicionando 800 µL de HCl na câmara *FB-GLS*, após isso, V6 é acionada por 5,0 s e a câmara é esvaziada. Imediatamente depois, a válvula V5 é acionada por 5,0 s para limpar o caminho entre a câmara *FB-GLS* – membrana perma

pure – AFS com argônio. Este procedimento de limpeza pode ser executado sempre que houver a troca de um ou mais fluidos do sistema.

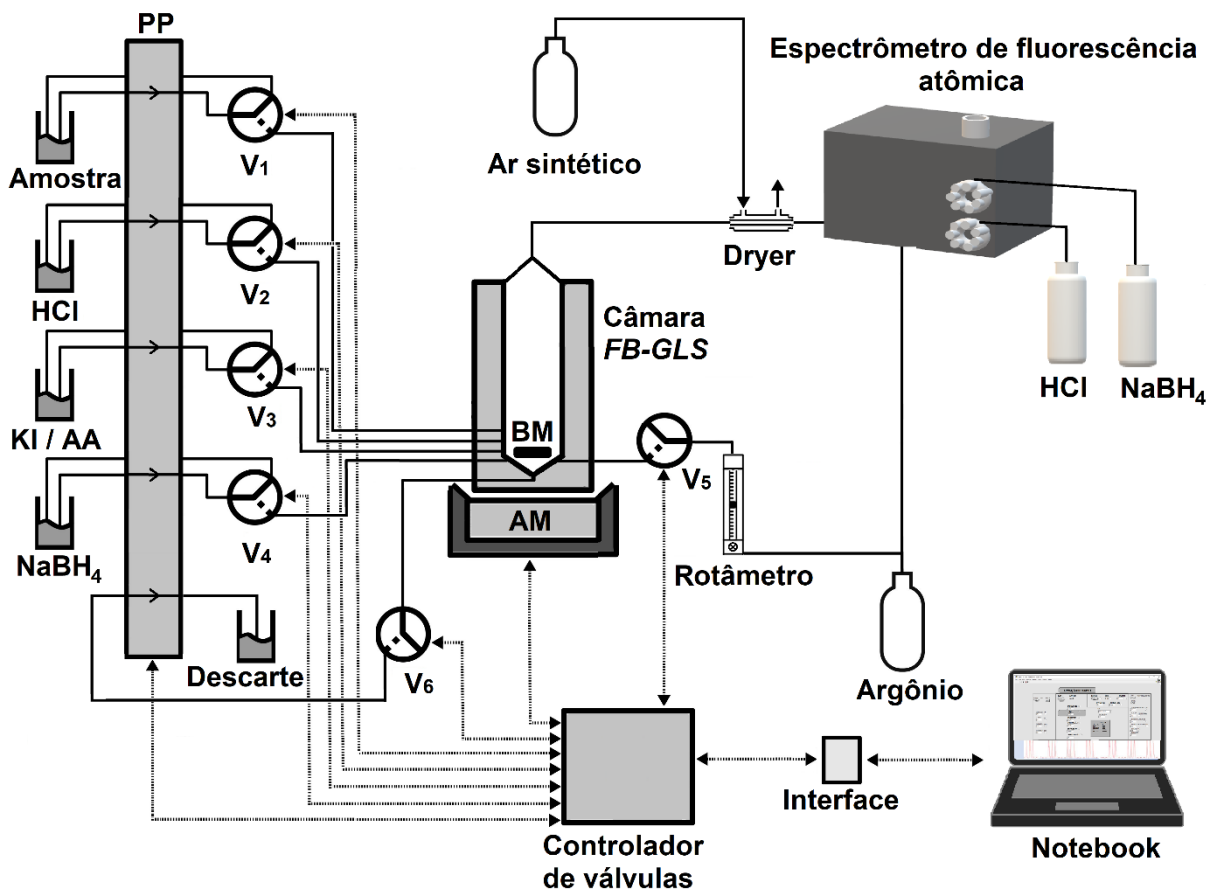


Figura 10 Diagrama esquemático do sistema fluxo-batelada desenvolvido para determinação e especiação de antimônio inorgânico em águas.

A determinação do Sb total é feita acionando simultaneamente as válvulas V1, V2 e V3, por 3,0, 2,0 e 1,0 s, adicionando volumes de 300, 200 e 100 μL a câmara FB-GLS com amostra, HCl, e KI / AA, respectivamente. As soluções são homogeneizadas por 2,0 s para redução de Sb(V) para Sb(III), após isso, as válvulas V4 e V5 são simultaneamente ligadas por 2,0 s e 5,0 s, bombeando 200 μL de NaBH₄ e gás de arraste (argônio), respectivamente, para a câmara FB-GLS. O hidreto de antimônio formado, a estibilina (SbH₃), é transportado pelo gás de arraste em direção a membrana de secagem e ao detector (AFS). Após a medição da fluorescência atômica através da leitura da altura do pico correspondente, a válvula V6 é ligada por 5,0 s e a câmara FB-GLS é esvaziada. Finalmente, o processo de limpeza é realizado, conforme descrito acima. A **Figura 11** resume as etapas de analíticas Desse procedimento.

Para a determinação de Sb(III), e portanto garantir que apenas esta espécie reaja com o redutor NaBH₄, a solução pré-redutora não é adicionada. A diferença entre os procedimentos de determinação de Sb total e Sb(III) é apenas que a válvula V3 não é acionada, como pode ser visto na **Figura 11**. O Sb(V) está complexado com o citrato de sódio, assim, com a adição do borohidreto de sódio somente a espécie Sb(III) reage para formar o hidreto de antimônio.

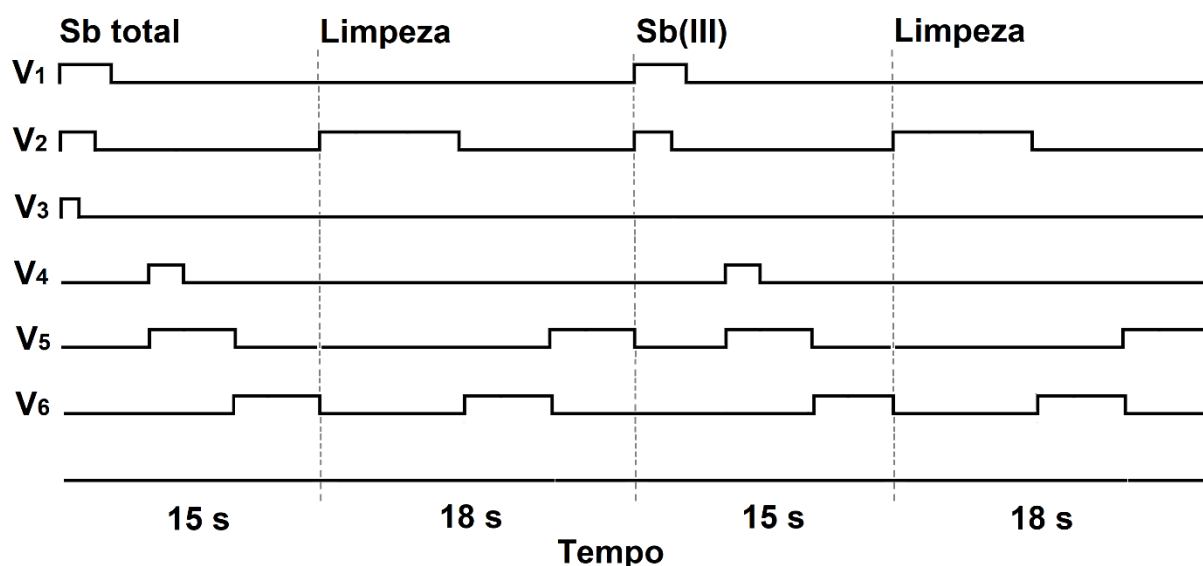


Figura 11 Diagrama de tempo do procedimento analítico automático.

3.1.4 Avaliação do desempenho analítico

Desenvolver um método analítico, aplicá-lo ou adaptá-lo, envolve etapas de avaliação para atestar que o procedimento desenvolvido apresenta desempenho analítico estatisticamente adequado. As duas metodologias desenvolvidas neste trabalho de pesquisa foram submetidas aos parâmetros de validação norteados pelas normas de validação para metodologias analíticas, os quais são brevemente descritos a seguir [193].

Sensibilidade e linearidade

A sensibilidade é calculada de acordo com a **Equação 8**:

$$S = \frac{dx}{dc} \quad (8)$$

Trata-se de um parâmetro que demonstra a variação da resposta analítica em relação à concentração do analito. Assim, pode-se dizer que a sensibilidade é a capacidade do método distinguir, a um determinado nível de confiança estatística, duas concentrações próximas [194]. A sensibilidade é determinada ao mesmo tempo que a linearidade e pode ser expressa pelo coeficiente angular do modelo matemático que descreve a curva analítica.

A linearidade é um parâmetro que diz respeito à capacidade do método em gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, em uma determinada faixa de concentração, geralmente empregando o método dos mínimos quadrados [194]. Esse parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de correlação do gráfico analítico, que deve ser próximo de 1, e a inclinação da reta deve ser diferente de zero.

Análise de variância

A análise de variância (ANOVA) é uma técnica estatística que permite validar o modelo matemático gerado pelos dados das concentrações com as respostas analíticas. A curva analítica só poderá ser utilizada para estimar a concentração do analito se ela for capaz de descrever o comportamento dos valores experimentais de maneira satisfatória. Assim, o modelo matemático obtido não pode apresentar evidências de falta de ajuste e deve refletir uma regressão estatística e significativa [195]. As equações para ANOVA do modelo ajustado aos dados experimentais são apresentada na **Tabela 11**.

O modelo linear obtido através do método dos mínimos quadrados é validado avaliando-se os resíduos, o teste de significância da regressão e o teste da falta de ajuste. A análise do gráfico dos resíduos permite verificar o comportamento do erros de previsão do modelo (resíduo) em relação aos dados experimentais. Nesse gráfico, o tipo de erro experimental associado aos dados pode ser identificado. Se um erro sistemático estiver presente, os resíduos apresentarão algum perfil ou estrutura, caso distribuam-se aleatoriamente em torno do zero, somente erros aleatórios associados aos dados experimentais estarão presentes.

Tabela 11 Equações para ANOVA aplicada a um modelo obtido pelo método dos mínimos quadrados [195].

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática
Regressão	$SQ_R = \sum_i^m \sum_j^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	$p - 1$	$MQ_R = \frac{SQ_R}{p - 1}$
Resíduos	$SQ_r = \sum_i^m \sum_j^n (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$	$n - p$	$MQ_r = \frac{SQ_r}{n - p}$
Falta de ajuste	$SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^n (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	$m - p$	$MQ_{faj} = \frac{SQ_{faj}}{m - p}$
Erro puro	$SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	$n - m$	$MQ_{ep} = \frac{SQ_{ep}}{n - m}$
Total	$SQ_T = \sum_i^m \sum_j^n (y_{ij} - \bar{y})^2$	$n - 1$	$MQ_T = \frac{SQ_T}{n - 1}$

Onde: p é o número de parâmetros usados no modelo; n é o número total de observações; m é o número de níveis distintos da variável independente.

Para avaliar a significância da regressão, compara-se a razão obtida entre a média quadrática devido à regressão (MQ_R) e a média quadrática residual (MQ_r) com o valor do ponto da distribuição F referente aos graus de liberdade de MQ_R e MQ_r a um certo nível de confiança estatística, que comumente é de 95%. A regressão é estatisticamente significativa se a razão for maior que o valor de F, caso contrário, não se pode admitir a existência de uma relação funcional (linear, quadrática, polinomial, etc.) entre as variáveis que possa ser descrita pelo modelo.

A avaliação da falta de ajuste, consiste na comparação, para os vários níveis da variável x, da média quadrática da falta de ajuste (MQ_{faj}) com a média quadrática devida ao erro puro (MQ_{ep}). O modelo não terá falta de ajuste se a razão ($MQ_{faj}/(MQ_{ep})$) for menor que o valor do ponto de distribuição F, referentes aos graus de liberdade de MQ_{faj} e MQ_{ep} e para um nível de 95% de confiança. Dessa forma, as duas médias quadráticas refletirão apenas os erros aleatórios associados aos dados. Caso contrário, o modelo apresenta falta de ajuste e necessita ser reestimado e revalidado.

Exatidão e precisão

Exatidão é a concordância entre o resultado obtido pelo método analítico proposto e o valor convencionalmente aceito como referência ou verdadeiro. Para avaliar a exatidão do método, pode-se analisar materiais de referências certificados utilizando a metodologia desenvolvida, ou testes de recuperação versus recuperação aparente podem ser utilizados. Nos testes de recuperação, quantidades conhecidas do analito são adicionadas nas amostras e depois quantificadas. Assim, calcula-se a taxa de recuperação empregando a **Equação 9**:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100 \quad (9)$$

Onde: C1 = concentração da substância de referência mais a concentração da amostra; C2 = concentração da amostra; C3 = concentração da substância de referência adicionada.

Precisão é a concordância entre os valores das replicatas experimentais obtidas na análise de uma mesma amostra. Quanto menor a amplitude dessas medidas, maior será a precisão. Costuma-se expressar a precisão como estimativa do desvio padrão ou do desvio padrão relativo (DPR%) de uma série de medidas. O DPR% é calculado segundo a **Equação 10**:

$$DPR \% = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (10)$$

Onde: DP = desvio padrão; CMD = concentração média determinada.

Limite de detecção e quantificação

Limite de detecção (LD) do método é a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada [194]. É calculado conforme a **Equação 11**:

$$LOD = \frac{3.s}{S} \quad (11)$$

Onde: s = desvio-padrão da resposta; S = coeficiente angular da curva de calibração analítica (sensibilidade do método).

O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis, sob as condições experimentais adotadas [194]. Utiliza-se a seguinte expressão abaixo para sua determinação:

$$LOQ = \frac{10 \cdot s}{S} \quad (12)$$

Onde: s = desvio-padrão da resposta; S = coeficiente angular da curva de calibração analítica (sensibilidade do método).

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2.1 Precisão das válvulas solenoides empregadas

Como os volumes adicionados na câmara FB-GLS do sistema em fluxo-batelada proposto são realizados pelo acionamento das válvulas solenoides juntamente com a rotação definida na bomba peristáltica, foi feito uma calibração individual de cada válvula. Assim, logo após a montagem do sistema esse estudo foi efetuado, correlacionando-se a quantidade em massa da solução adicionada em função do tempo de acionamento da mesma, e definindo-se assim a vazão em cada linha de fluxo.

Cada linha de fluxo teve a vazão determinada pela adição de volumes correspondente ao tipo de fluido que seria usado, medidos em massa numa balança analítica (Scientech modelo SA210), utilizando tempos de abertura das válvulas previamente estabelecidos. A **Tabela 12** mostra as vazões médias observadas para cada linha.

Tabela 12 Vazões médias observadas para cada válvula do sistema proposto (n=20).

Válvula	Solução	Vazão ($\mu\text{L s}^{-1}$)
V1	Amostra ou padrão	100,3 $\pm$ 1,3
V2	Ácido clorídrico	100,2 $\pm$ 1,1
V3	Solução pré-redutora	100,1 $\pm$ 1,2
V4	Borohidreto de sódio	100,4 $\pm$ 1,3
V6	Descarte	200,2 $\pm$ 1,3

3.2.2 Otimização do método FBA-HG-AFS

Para otimização da especiação de antimônio utilizando o sistema automático fluxo-batelada, geração de hidretos e detecção por fluorescência atômica (FBA-HG-AFS), foi empregado inicialmente um planejamento fatorial completo de dois níveis (2^3) para avaliar os efeitos dos fatores e se os mesmos possuíam significância na determinação de antimônio, assim como, se existe algum tipo de interação entre eles. Os fatores envolvidos foram: concentração de borohidreto de sódio, concentração de ácido clorídrico e vazão do gás argônio.

Para execução desse planejamento, alguns parâmetros como a com concentração de $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ para solução padrão de Sb(III), os volumes da solução padrão, HCl, da solução pré-redutora de KI / AA e do NaBH_4 foram fixados em 300, 200, 100, 200 μL , respectivamente. Assim, baseados no estudo das vazões de cada válvula, foi possível definir os tempo de acionamentos para que estes volumes fossem adicionados à câmara FB-GLS.

O sinal analítico correspondente a fluorescência atômica das espécies foi registrado como altura de pico. A **Tabela 13** mostra os fatores, os níveis - 1, 0 e + 1 correspondentes aos valores reais de cada fator e a matriz do planejamento fatorial completo juntamente com as respostas analíticas para cada experimento. Importante ressaltar que os experimentos foram executados em ordem aleatória. Os dados obtidos foram processados utilizando STATISTICA® (StatSoft Inc, Statistica 8.0, StatSoft Inc, Tulsa, EUA, 2007) com um nível de confiança de 95%.

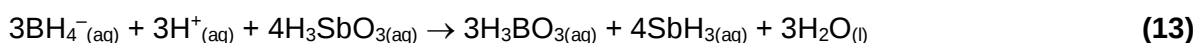
Tabela 13 Fatores, níveis e a matriz de planejamento fatorial completo de dois níveis (2³).

Fatores	Níveis		
	-1	0	1
Concentração de HCl (mol L ⁻¹)	1,5	2,5	3,5
Concentração de NaBH ₄ (% m v ⁻¹)	0,5	1	1,5
Vazão do gás argônio (mL min ⁻¹)	10	35	60

Experimento	NaBH ₄	HCl	Vazão	Resposta
1	-1	-1	-1	250,30
2	-1	-1	1	273,10
3	-1	1	-1	240,90
4	-1	1	1	241,00
5	1	-1	-1	359,00
6	1	-1	1	445,60
7	1	1	-1	320,00
8	1	1	1	373,40
9	0	0	0	345,00
10	0	0	0	362,10
11	0	0	0	364,50

Com base nas respostas obtidas através da matriz de planejamento, um gráfico de pareto foi gerado, como mostrado na **Figura 12**. A análise deste gráfico permite verificar se os fatores escolhidos são significativos e se existe alguma interação significativa entre eles, com um nível de confiança de 95%.

A análise do gráfico de Pareto mostra que os fatores elencados têm uma influência significativa sobre a resposta analítica no nível de confiança de 95%. O fator mais significativo é a concentração de NaBH₄ (efeito padronizado = 16,38). De fato, a concentração de NaBH₄ apresenta uma influência positiva e significativa sobre a resposta analítica. De acordo com a **Equação 13**, Sb(III) é o reagente limitante.



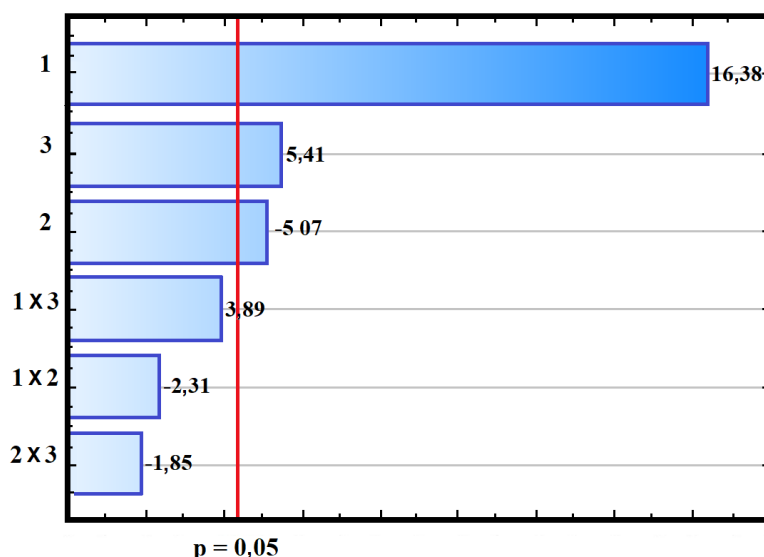


Figura 12 Gráfico de Pareto do planejamento fatorial completo de dois níveis. Fator 1 = concentração do NaBH_4 ; fator 2 = concentração de HCl ; fator 3 = vazão do argônio.

O segundo fator mais significativo é a vazão de argônio (fator 3). O efeito positivo sobre a fluorescência atômica (efeito padronizado = 5,41) pode ser explicado pela rápida formação da estibina (SbH_3), e porque a altura do pico foi usada para as medidas analíticas do AFS. A influência positiva pode ser explicada pela própria operação do método FBA-HG-AFS. Como a SbH_3 é produzida dentro da câmara FB-GLS e transportada por argônio em direção ao detector AFS, um aumento na taxa de fluxo de argônio causará uma diminuição na dispersão de SbH_3 , aumentando assim a resposta analítica.

O terceiro fator, a concentração de HCl (fator 2), apresentou um efeito significativo e negativo (efeito padronizado = - 5,07), indicando uma perda na resposta analítica à medida que a concentração de HCl aumenta. Quantidades excessivas de HCl aumentam a formação de $\text{H}_{2(g)}$ dentro da câmara FB-GLS, dispersando o SbH_3 e consequentemente diminuindo o sinal analítico.

Os efeitos da interação entre os três fatores não foram significativos ($p < 0,05$) e os resultados da ANOVA apresentaram curvatura significativa e ausência de falta ajuste para este domínio experimental, indicando uma resposta analítica máxima próxima ao ponto central, como foi observado em outros trabalhos [138]. Assim, uma otimização final precisa ser executada a fim de determinar as melhores condições experimentais para esses três fatores.

Neste contexto, um novo domínio experimental foi estabelecido para estes fatores levando-se em conta os resultados apresentados pelo gráfico de Pareto. Por apresentar influência positiva na resposta analítica, concentração de NaBH_4 foi estipulada entre 1,0 e 3,0 % m v⁻¹. Como a concentração de HCl mostrou influência negativa, o novo intervalo de concentração foi de 0,7 a 2,1 mol L⁻¹. Apesar da vazão influenciar positivamente na fluorescência atômica, valores maiores não puderam ser avaliados, pois o rotâmetro apenas permite regulagens entre 0 e 65 mL. Assim, a vazão estudada ficou entre o intervalo de 15 a 65 mL min⁻¹.

Dessa forma, um planejamento Box-Behnken foi montado e executado aleatoriamente. Os valores experimentais (reais e os valores codificados) e os resultados de cada medida são apresentados na **Tabela 14**.

Tabela 14 Planejamento Box–Behnken para otimizar o método FBA–HG–AFS para determinação e especiação de Sb.

Experimento	Argônio (mL min ⁻¹)	NaBH_4 (% m v ⁻¹)	HCl (mol L ⁻¹)	Resposta
1	15 (-1)	1 (-1)	1,4 (0)	175,87
2	65 (+1)	1 (-1)	1,4 (0)	161,32
3	15 (-1)	3 (+1)	1,4 (0)	288,75
4	65 (+1)	3 (+1)	1,4 (0)	287,77
5	15 (-1)	2 (0)	0,7 (-1)	225,51
6	65 (+1)	2 (0)	0,7 (-1)	218,05
7	15 (-1)	2 (0)	2,1 (+1)	315,83
8	65 (+1)	2 (0)	2,1 (+1)	264,78
9	40 (0)	1 (-1)	0,7 (-1)	176,62
10	40 (0)	3 (+1)	0,7 (-1)	228,30
11	40 (0)	1 (-1)	2,1 (+1)	233,85
12	40 (0)	3 (+1)	2,1 (+1)	277,78
13	40 (0)	2 (0)	1,4 (0)	293,18
14	40 (0)	2 (0)	1,4 (0)	298,50
15	40 (0)	2 (0)	1,4 (0)	308,00

Os dados obtidos através da matriz de planejamento Box-Behnken foram avaliados empregando o mesmo *software* utilizado no planejamento fatorial completo de dois níveis. Dessa maneira, um modelo quadrático ($R = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4(X_1)^2 + b_5(X_2)^2 + b_6(X_3)^2$) foi gerado, onde: R = resposta analítica, X_1 = argônio, X_2 = NaBH₄ and X_3 = HCl) foi ajustado aos valores experimentais da **Tabela 14**. Para sua validação, uma análise de variância (ANOVA) foi implementada para avaliar a falta de ajuste e a significância da regressão e os resultados são apresentados na **Tabela 15**.

Tabela 15 Resultados da ANOVA para o modelo quadrático ajustado a partir dos dados do planejamento Box-Behnken.

Fator	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F valor	p-valor
Modelo	33.351,1	6	5.558,5	98,617	0,010
Argônio	685,240	1	685,240	12,157	0,073
(Argônio) ²	1.832,924	1	1.832,924	32,519	0,029
NaBH ₄	14.023,100	1	14.023,100	248,795	0,004
(NaBH ₄) ²	8.932,450	1	8.932,450	158,478	0,006
HCl	7.427,367	1	7.427,367	131,775	0,008
(HCl) ²	1.717,968	1	1.717,968	30,480	0,031
Falta de ajuste	3.463,978	6	577,330	10,243	0,092
Erro puro	112,73	2	56,36		
Total	36.927,84	14			

Assim, é razoável afirmar que o modelo quadrático está adequado aos dados, a partir dos resultados do valor F (98,61) e valor p (0,010) para regressão e valor F (10,24) e valor p (0,09) para a falta de ajuste. Ao aplicar análise de regressão múltipla, a **Equação 14** quadrática (apresentada com valores codificados) é obtida. Esta equação descreve as superfícies de resposta apresentadas na **Figura 13**.

$$R = 299,9 - 9,26 \text{ Argon} + 41,87 \text{ NaBH}_4 + 30,47 \text{ HCl} - 22,3 \text{ Argon}^2 - 49,20 (\text{NaBH}_4)^2 - 21,6 (\text{HCl})^2 \quad (14)$$

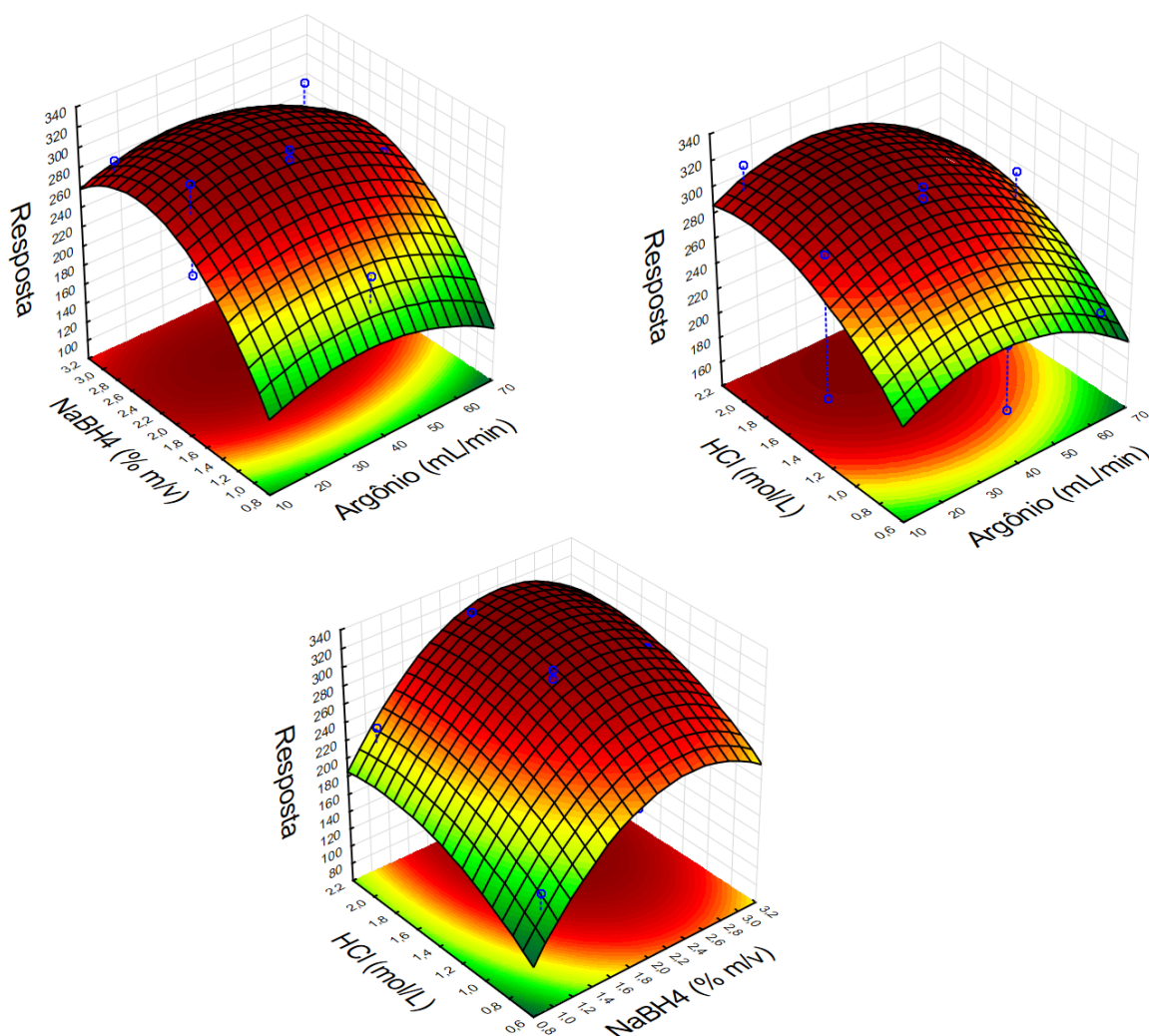


Figura 13 Superfícies de respostas obtidas pela matriz Box-Behnken.

Finalmente, as condições experimentais ótimas para os fatores são as seguintes: $1,89 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl, $2,42\% \text{ m v}^{-1}$ de NaBH_4 em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH e $34,8 \text{ mL min}^{-1}$ de vazão de argônio. Estes parâmetros experimentais otimizados, juntamente com as condições inicialmente fixadas (solução pré-redutora KI / AA, e os volumes solução padrão, HCl, KI / AA e NaBH_4) constituem as condições experimentais definitivas para o método automático FBA-HG-AFS proposto.

3.2.3 Validação da curva analítica e parâmetros de desempenho

Sob as condições ótimas estabelecidas utilizando o método FBA-HG-AFS proposto, uma curva analítica foi construída entre 100 e 2.000 ng L^{-1} e é apresentada na **Figura 14**. A curva apresenta um comportamento linear entre a concentração de Sb(III) e as medidas de fluorescência atômica na faixa de concentração trabalhada. A

análise dos resíduos deixados pelo modelo e resultados da ANOVA corroboram com este fato.

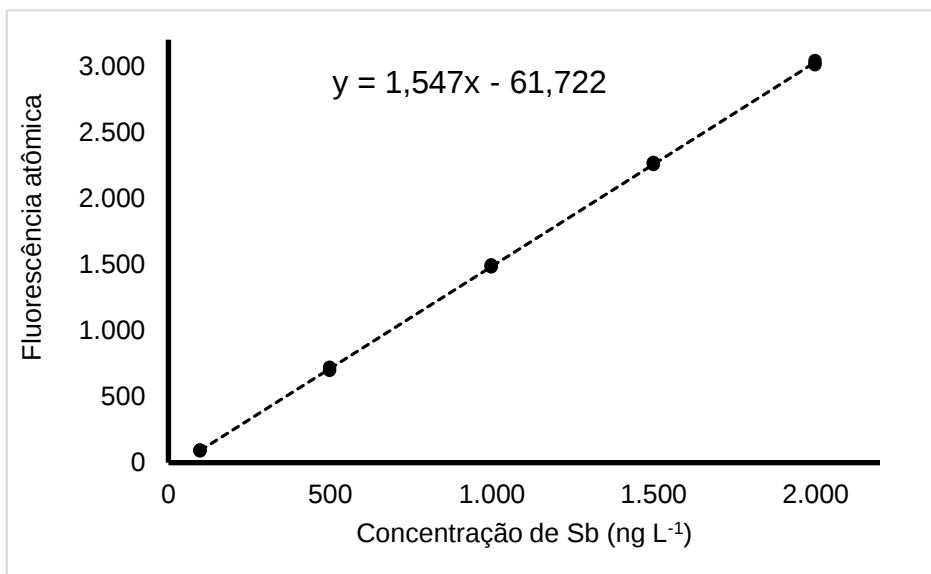


Figura 14 Curva analítica para determinação de Sb(III) em amostras de águas.

A análise de variância (ANOVA), mostrada na **Tabela 16**, foi novamente implementada para avaliar a falta de ajuste e a significância da regressão do modelo de calibração linear [196]. A curva analítica foi construída com base em medições reais em triplicadas de cinco níveis de concentrações de Sb(III). Os valores do modelo regressão, resíduos, falta de ajuste e erro puro foram calculados usando valores da média quadrática (MQ). Em um nível de confiança de 95%, a razão da MQ falta de ajuste / MQ erro puro foi menor, e a MQ da regressão / MQ resíduo foi maior que o ponto F de distribuição, indicando um ajuste satisfatório para a curva analítica. Em outras palavras, não houve falta de evidência de ajuste para o modelo linear e a regressão linear foi estatisticamente significativa. Além disso, os resíduos apresentaram uma distribuição aleatória aproximando-se de zero. O modelo linear pode, portanto, ser considerado adequado e válido para a estimativa das concentrações de Sb(III) em amostras desconhecidas.

Tabela 16 Análise de variância (ANOVA) para o modelo linear obtido pelo método proposto.

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F	Tabelado
Regressão (R)	$1,66 \times 10^7$	1	$1,66 \times 10^7$	MQreg/MQr	$F_{1,13}$
Resíduo (r)	$1,56 \times 10^3$	13	$1,20 \times 10^2$	$1,38 \times 10^5$	4,67
Falta de ajuste (faj)	$3,07 \times 10^2$	3	$1,02 \times 10^2$	MQfaj/MQep	$F_{3,10}$
Erro puro (ep)	$1,25 \times 10^3$	10	$1,25 \times 10^2$	$8,16 \times 10^{-1}$	3,71

Assim, obteve-se uma curva analítica satisfatória para a especiação de antimônio inorgânico em águas. A equação de regressão estimada foi $R = (-61,72 \pm 5,10) + (1,55 \pm 0,004) C$; onde R é a resposta analítica (medições de altura de pico associadas às intensidades de fluorescência atômica), e C é a concentração de Sb(III) na faixa de trabalho de 100 a 2.000 ng L⁻¹. Como esses intervalos de confiança não contêm "zero", os parâmetros foram considerados estatisticamente significativos com 95% de confiança.

Uma vez que a curva analítica foi validada, o valores dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram estimados respectivamente em 3 e 10 vezes os desvios padrão do branco, de acordo com a União Internacional de Pura e Aplicada [197]. Trinta medidas em branco foram utilizadas para essa estimativa, onde os respectivos valores de LD e LQ foram de 6 e 20 ng L⁻¹.

3.2.4 Especiação de antimônio inorgânico em águas

Baseado nas sessões expostas anteriormente, o método automático proposto FBA-HG-AFS se mostrou adequado para análise em amostras de concentração desconhecida, desta forma, ele foi usado para especiação de antimônio inorgânico em seis amostras de água (3 de água mineral - AM, 1 de água do mar - ADM, 1 de água de torneira - AT e 1 de água do lago - AL). Testes de recuperação em dois níveis foram executados em três amostras (AM₁, 1 ADM e 1 AT).

Como pode ser visto na **Tabela 17**, os testes de recuperação indicaram que a precisão e exatidão foram satisfatórias. As recuperações variaram de 90 ± 4 até $112 \pm 20\%$ e 98 ± 4 até $114 \pm 18\%$, para Sb(III) e Sb(V) respectivamente. E, as

concentrações encontradas foram de 140 ± 20 a 430 ± 30 ng L⁻¹, de 210 ± 30 a 990 ± 90 ng L⁻¹ para Sb (V) e de 350 ± 20 a 1.410 ± 90 ng L⁻¹ para Sb total.

Tabela 17 Especificação de antimônio inorgânico em águas (n = 3).

Amostras	Sb(III) (ng L ⁻¹)	Sb(V) (ng L ⁻¹)	Sb total (ng L ⁻¹)	Adições			
				200 ng L ⁻¹		400 ng L ⁻¹	
				Recuperações (%)			
				Sb(III)	Sb(V)	Sb(III)	Sb(V)
AM ₁ ^a	180 ± 20	280 ± 30	460 ± 30	94 ± 3	98 ± 5	96 ± 4	99 ± 6
AM ₂ ^a	210 ± 20	250 ± 40	460 ± 30	—	—	—	—
AM ₃ ^a	140 ± 20	210 ± 30	350 ± 20	—	—	—	—
ADM ^b	430 ± 30	430 ± 60	860 ± 50	112 ± 20	114 ± 18	97 ± 11	109 ± 18
AT ^c	310 ± 20	590 ± 60	900 ± 60	90 ± 4	99 ± 4	95 ± 5	98 ± 4
AL ^d	410 ± 30	990 ± 90	1.410 ± 90	—	—	—	—

^aAM: água mineral; ^bADM: água do mar; ^cAT: água da torneira; ^dAL: água de Lago.

Adicionalmente, a exatidão do método foi também confirmada pela análise de um material de referência certificado (SRM 1643e) de elementos traço em água fornecidos pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST, EUA). Antes da análise, a amostra de referência foi adequadamente diluída para interpolar o sinal dentro da faixa de trabalho da curva analítica. Este SRM apresenta um valor certificado para antimônio total de $58,3 \pm 0,6$ µg L⁻¹, e o valor obtido usando o método automatizado FBA–HG–AFS foi de $57,9 \pm 0,3$ µg L⁻¹, resultando em um erro relativo de 0,7%.

3.2.5 Comparação com outros métodos automáticos

O método FBA-HG-AFS proposto uma proposta analítica automática para a determinação e especificação de antimônio inorgânico. A literatura relata alguns trabalhos executados com esta mesma proposta. As características analíticas

proposta pelo método FBA-HG-AFS e outros métodos automáticos de fluxo [96,138,189] são apresentadas na **Tabela 18**. O tempo de especiação do método desenvolvido foi calculado pela soma dos tempos das determinações totais de Sb total e Sb(III) (15s + 15s) e limpezas (18s + 18s), como pode ser visto na **Figura 11**. Assim, o tempo total de cada especiação é de 66s, o que corresponde a cerca de 54 especiações por hora. Cálculos semelhantes foram realizados para estimar os tempos de especiação de outros métodos de fluxo na **Tabela 18**.

No método proposto FBA-HG-AFS a etapas de mistura / homogeneização, reação, geração de hidreto de antimônio e separação gás-líquido são todas realizadas em uma câmara FB-GLS. Para este propósito, outros métodos automatizados de fluxo [96,138,189] usam dispositivos complexos como bobinas de reação, minicolunas, separadores comerciais de gás-líquido e armadilhas criogênicas.

Em comparação com outros métodos automáticos em fluxo, o método FBA-HG-AFS apresenta o menor tempo de especiação, baixo consumo de reagentes (por exemplo, NaBH_4) e de amostras. Isso ocorre porque o sistema proposto não utiliza etapas de separação, extração ou eluição das amostras, e não envolve procedimentos de pré-concentração, como os encontrados nos métodos CFA-HG-GFAAS [189] e FIA-HG-ICPMS [96]. Além disso, a amostra não sofre dispersão em bobinas de reação e mini-colunas, ou diluição em líquidos confluentes, o que causa perdas de sensibilidade, como encontrado em MSFIA-HG-AFS [138] e outros métodos de fluxo [96,189].

Tabela 18 Características analíticas do método proposto e de outros métodos em fluxo usando a técnica HG para especiação de antimônio inorgânico em águas.

Parâmetros	FBA-HG-AFS (Este trabalho)	MSFIA-HG-AFS [138]	CFA-HG-GFAAS [189]	FIA-HG-ICPMS [96]
Faixa de trabalho (ng L ⁻¹)	100 – 2.000	90 – 5.000	NR	50 – 8.000
LOD (ng L ⁻¹)	6	30	5	13
RSD (%)	4	3	NR	5
Especiações por hora	54	15	6	5
Faixa de concentração de Sb total nas amostras (ng L ⁻¹)	350 – 1.410	230 – 560	180 – 200	272 – 288
Consumo de amostra por expeciação (µL)	600	2.000	5.000	4.400
Etapas de pré-concentração, separação ou eluição	ausente	ausente	presente	presente
Consumo de NaBH ₄ por especiação (g)	0,01	1,14	0,376	0,014
Otimização	multivariada	multivariada	univariada	univariada
Eluição/dispersão	ausente	presente	presente	presente
Amostra	Água mineral, etc	água do mar, água de beber e água de superfície	Água do mar	Água do mar, água de lago e rio

FBA: Análise fluxo-batelada, HG: geração de hidretos, AFS: espectrometria de fluorescência atômica, MSFA: análise em fluxo por injeção de, CFA: análise em fluxo contínuo, GFAAS: espectrometria de absorção atômica em forno e grafite, FIA: análise por injeção em fluxo, ICPMS: espectrometria de massas usando plasma indutivamente acoplado e NR: não reportado.

4 UMA ESTRATÉGIA ANALÍTICA AUTOMÁTICA PARA DETERMINAÇÃO DIRETA DE ANTIMÔNIO TOTAL EM AMOSTRAS DE SUCO DE UVA

O suco de uva, nutricionalmente pode ser comparado a própria uva, pois na sua composição estão todos os constituintes principais, tais como: açúcares, minerais, ácidos, vitaminas e compostos fenólicos responsáveis por sua cor e estrutura. Ele está entre os sucos de frutas mais comercializados e seu consumo tem aumentado nos últimos anos [198]. Por diversos processos, já apresentados na fundamentação teórica desta tese, o antimônio está inerentemente presente nessa matriz e por esta razão a um limite máximo tolerável de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ é estabelecido para este contaminante.

A determinação desse contaminante, devido à complexidade dessa matriz, é geralmente feita empregando-se algum procedimento de mineralização. Aliado a isso, o caráter volátil do antimônio faz com que procedimentos de abertura de amostra necessitem de cuidado durante sua execução. Como apresentado na seção 2.1.6, há poucos trabalhos relatados na literatura para a determinação desse elemento em matrizes de suco de uva. Somado a isso, a maioria dos relatos científicos apontam que os procedimentos são usualmente feitos em batelada, em que a maior parte do tempo da análise é destinada ao preparo das amostras.

Diante disso, o presente trabalho procurou investigar a extração de antimônio total em amostras de suco de uva para posterior geração de hidretos diretamente nessa matriz e detecção por espectrometria de fluorescência atômica. O método desenvolvido foi aplicado à análise de seis amostras de suco de uva adquiridas na cidade de Maceió, Alagoas.

4.1 EXPERIMENTAL

4.1.1 Reagentes, soluções e amostras

Os padrões de antimônio foram preparados a partir de sucessivas diluições de um padrão de 1.000 mg L^{-1} (MERCK, Darmstadt, Alemanha) em ácido nítrico 0,05% (v v⁻¹). Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico. As soluções foram preparadas com água ultrapura (condutividade $<0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$) obtida de um purificador Millipore Direct - Q5 UV (EUA). O material de vidro foi mantido em solução de HNO_3 10% (v v⁻¹) durante 12 h, para descontaminar, e lavado antes do uso com água ultra-pura.

A solução de NaBH_4 foi preparada diariamente dissolvendo-se uma quantidade adequada de borohidreto de sódio (Fluka, Alemanha) em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (Scharlau, Espanha) e posteriormente filtrada através de uma membrana de nylon com tamanho de poro de $0,45 \mu\text{m}$ (Lida, EUA). Um agente pré-redutor KI/AA [iodeto de potássio a 50% m v⁻¹ (Synth, Brasil) e ácido ascórbico a 10% m v⁻¹ (Sigma-Aldrich, EUA)] foi preparado diariamente para reduzir as espécies de antimônio presentes para Sb(III) . Soluções de ácido clorídrico foram preparadas a partir do HCl concentrado (Merck, Alemanha).

Uma suspensão de $\text{Mg(NO}_3)_2$ e MgO foi preparada para a mineralização das amostras de suco. Assim, $40,0 \text{ g}$ de $\text{Mg(NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e $4,0 \text{ g}$ (m v⁻¹) de MgO foram colocados em água e elevado ao volume final de 100 mL . Essa mistura foi mantida em agitação constante.

Amostras de suco de uva foram adquiridas em supermercados locais na cidade de Maceió, Alagoas e foram mantidas sob refrigeração de 4°C até o momento da análise.

4.1.2 Instrumentação e sistema automático

Durante a realização do trabalho experimental descrito nesta seção, todas as medidas foram realizadas utilizando os mesmos equipamentos e o sistema FBA-HG-AFS (**Figura 10**) que foi empregado no capítulo descrito na seção 3.1.1. Então,

equipamentos, montagem e *software* utilizados para caracterizar o método FBA-HG-AFS foram os mesmos. A determinação de antimônio total realizada nesta seção, diferenciou-se nas otimizações e tempos de acionamentos das válvulas solenoides.

4.1.3 Mineralização por via seca para determinação de antimônio total em suco de uva

Uma suspensão de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ - MgO foi preparada para mineralização das amostras de suco de uva. A suspensão evita a perda do analito e aumenta a velocidade oxidação [89]. Desta forma, 1,0 mL da suspensão de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ - MgO e 1,0 mL de amostra foram adicionados a um cadinho de 50 mL, coberto com um vidro relógio. A mistura foi mineralizada em um forno mufla, com um aumento gradual da temperatura, com o seguinte rampa de aquecimento: 100 °C por 1h, 250 °C por 2 h e 540 °C por 14 h [199]. O material inorgânico residual foi dissolvido em 3 mL ácido clorídrico concentrado e diluído com água ultra pura até o volume final de 10 mL. O branco foi preparado adicionando-se 1,0 mL da suspensão de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ - MgO e 1,0 mL de água deionizada a um cadinho de 50 mL, coberto com um vidro relógio. Seguiu-se a mesma rampa de aquecimento empregada para as amostras e mesmo procedimento de diluição empregado nas amostras.

4.1.4 Procedimento automático

A estratégia de determinação direta automática de antimônio total em sucos de uva empregando o sistema FBA-HG-AFS é feita adicionando HCl diretamente no suco de uva para fazer a diluição/extração das espécies de antimônio presentes. Após o tempo adequado de agitação, é feita a adição do pré-redutor, uma solução de iodeto de potássio (KI) e ácido ascórbico (AA), para reduzir as espécies de antimônio presentes para Sb(III) e, finalmente, é feita a determinação do antimônio total.

Os procedimentos para ligar a bomba peristáltica, agitador magnético e encher os canais de todos os fluidos, assim como a etapa de limpeza da câmara FB-GLS e do caminho até o detector do equipamento são idênticos aos já relatados na seção 3.1.3. Assim, detalharemos aqui apenas o procedimento de determinação de antimônio total.

A determinação direta de antimônio total em sucos de uva é feita acionando simultaneamente as válvulas V1 e V2 por 3,0 e 5,0 s, adicionando 300 μ L de amostra e 500 μ L de HCl a câmara FB-GLS. A mistura é homogeneizada por 5,0 s para promover a extração/diluição das espécies de antimônio e, após isso, a válvula V3 é acionada por 1,0 s, bombeando 100 μ L de KI / AA para dentro da câmara de mistura. Após 2,0 s de homogeneização, as espécies de antimônio são reduzidas para Sb(III) e então as válvulas V4 e V5 são acionadas simultaneamente por 2,5 s e 5,0 s, adicionando a câmara FB-GLS, 250 μ L de NaBH₄ e gás de arraste (argônio). A estibina produzida é então encaminhada para o sistema de detecção e a fluorescência atômica é medida por altura de pico. Logo em seguida, a válvula V6 é ligada por 5,0 s para esvaziar a câmara de mistura. O procedimento de limpeza é prontamente iniciado após isso. A **Figura 15** mostra o diagrama de tempo para essa determinação.

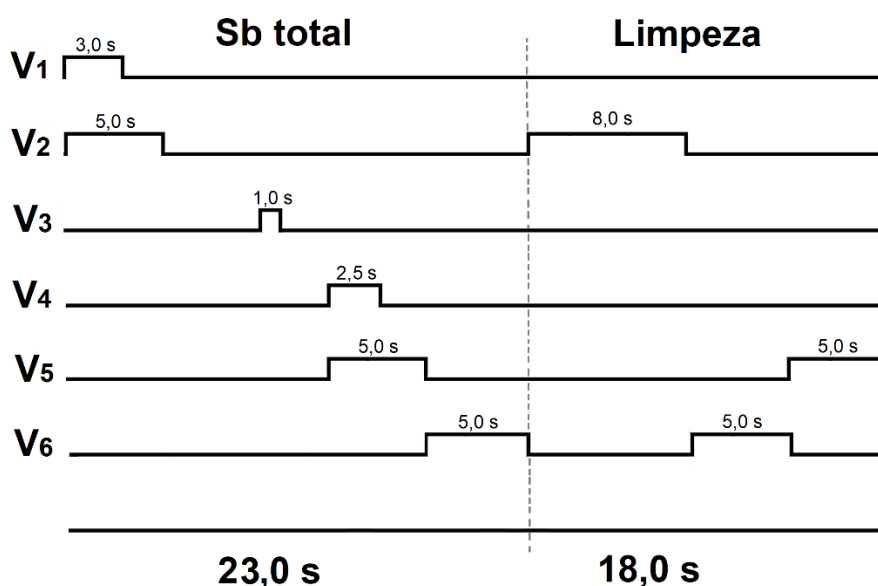


Figura 15 Diagrama de tempo do procedimento analítico automático para determinação de Sb total em amostras de suco de uva.

4.1.5 Avaliação do desempenho analítico

A determinação direta em suco de uva empregando o sistema FBA-HG-AFS foi avaliada segundo o desempenho analítico conforme parâmetros já descritos na seção 3.1.4. Como não há material de referência certificado para antimônio em suco de uva, além de testes de recuperação, análises de referência foram executadas. Assim, adicionalmente, teste t serão executados para verificar se o método desenvolvido apresenta exatidão adequada.

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2.1 Extração de antimônio total em amostras de suco de uva

Um estudo para selecionar o agente de extração mais adequado para o antimônio foi realizado antes da otimização do método automático. A seleção desses extratores foi baseada em trabalhos de extração de antimônio em outras matrizes [89,187,200] e na consideração de que no método de geração de hidretos, a amostra deve ficar acidificada para reagir com o borohidreto de sódio e assim gerar os hidretos de antimônio [14].

Nesse estudo, o ácido empregado na extração e o tempo para este procedimento foram avaliados. Estes fatores não puderam ser avaliados de forma multivariada, pois existe a possibilidade de respostas analíticas maiores e menores que 100% conforme a eficiência do extrator, o que pode causar uma falsa ideia de ótimo. Assim, conforme foi avaliado o melhor extrator, avaliou-se o melhor tempo de extração.

Nesse contexto, três ácidos foram escolhidos para extração e este estudo foi executado seguindo o diagrama de tempo mostrado na **Figura 15**, com exceção ao tempo de homogeneização, após a adição do ácido por V2, que foi estudado entre 2 e 120 segundos. Foram fixadas a concentração de borohidreto de sódio em 2,5% (em 0,1 mol L⁻¹ de NaOH), solução pré-redutora de KI / AA em 1% e vazão do gás de arraste em 35 mL min⁻¹. Os extratores investigados, assim como suas concentrações e porcentagem de recuperação de antimônio total são mostrados na **Figura 16** para um tempo de homogeneização de 5 segundos. Os agentes mais promissores para a determinação direta nas concentrações estudadas foram o HCl 3 e 6 mol L⁻¹ e o HNO₃ 2 mol L⁻¹, cujas recuperações foram aproximadamente 91, 99 e 90, respectivamente.

As recuperações maiores que 100%, mostram que os sinais de AFS foram afetados quando concentrações altas de HNO₃ e H₂SO₄ foram utilizadas. Como o iodeto de potássio é utilizado como agente pré-redutor, aliado a concentração desses ácidos oxidantes, muito provavelmente a espécie I₃⁻ é formada e interfere positivamente no sinal de fluorescência de Sb. Então, pelo apresentado na **Figura 16**,

o HCl é o ácido mais adequado para a extração de antimônio. Desta forma, ele foi escolhido para os próximos estudos.

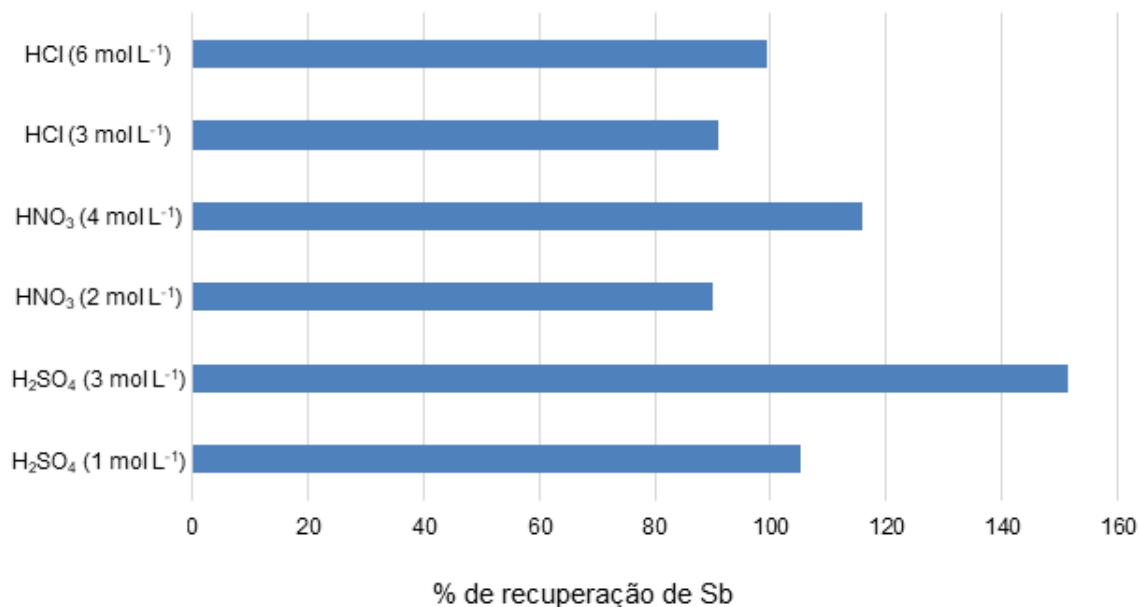


Figura 16 Influência da extração ácida na determinação direta de antimônio em amostra de suco de uva em 5 segundos de homogeneização. A porcentagem de recuperação foi comparada com a determinação de Sb total após a mineralização da amostra em forno mufla ($4,0 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$).

Conforme o estudo do melhor extrator, concomitantemente, os tempo de extração também foram avaliados para cada ácido. Os tempo de homogeneização empregados nesse estudo foram 0, 5, 10, 30, 60 e 120 segundos. Em especial, a **Figura 17** mostra a avaliação dos tempo de extração para o HCl 6 mol L⁻¹. Como mostrado, é necessário um tempo mínimo de pelo menos 5 s para extração eficiente, após este tempo as extrações praticamente se mantém em um patamar constante. Desta maneira, o tempo de 5 s foi selecionado como tempo de homogeneização para extração do Sb total empregando o HCl.

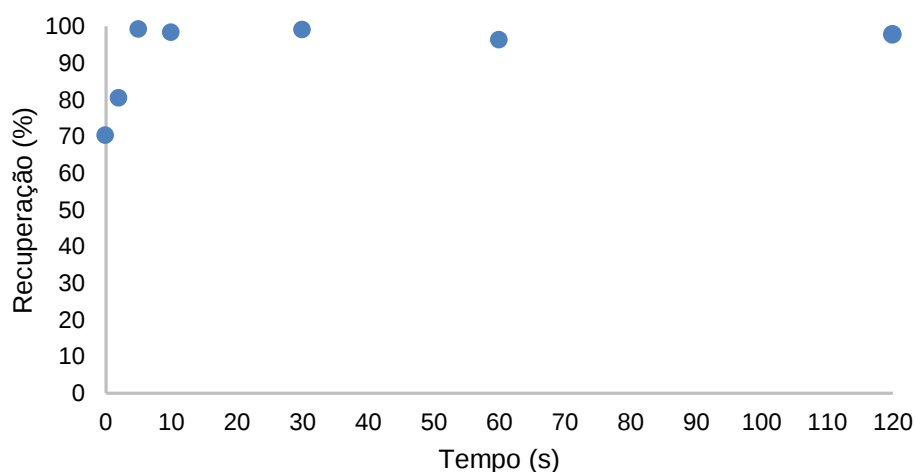


Figura 17 Avaliação do tempo para extração de antimônio total empregando HCl 6 mol L⁻¹.

Otimização dos resultados para determinação direta de antimônio total usando FBA-HG-AFS

Os fatores que influenciam na geração de hidretos usando o sistema FBA são a concentração de ácido, a concentração do redutor e o gás de arraste, conforme já mostrados no estudo anterior para determinação e especiação de Sb em amostras de água. Esses fatores também fazem parte da otimização para geração de hidretos direta em amostras de suco de uva. O HCl para realizar a extração de antimônio e acidificar a amostra, o NaBH₄ para gerar os hidretos e o argônio para carregar a estibina para detecção. Assim, foi aplicada uma metodologia de superfície de resposta Box-Behnken, a fim de se obter as condições ótimas para a geração de hidretos.

O domínio experimental foi escolhido conforme a necessidade dos testes e dos valores de ótimo do sistema FBA-HG-AFS mostrado na otimização para determinação e especiação de antimônio em águas. Dessa forma, a concentração de HCl foi estipulada entre 5 e 7 mol L⁻¹, pois como a concentração de 6 mol L⁻¹ mostrou recuperação mais adequada de Sb em amostras de suco de uva, um estudo em torno dessa região seria interessante para a geração de hidretos. A concentração de NaBH₄ foi estudada entre 2 e 4 %, e a vazão do argônio ficou entre 15 a 55 mL min⁻¹.

Para execução do planejamento, alguns parâmetros foram fixados. A concentração 0,8 µg L⁻¹ para solução padrão de Sb(III), os volumes da solução padrão, HCl, da solução pré-redutora de KI / AA e do NaBH₄ foram fixados em 300, 500, 100, 250 µL, respectivamente. O sinal analítico de fluorescência atômica foi registrado

como altura de pico. A **Tabela 19** mostra a matriz com os valores reais e os valores codificados dos fatores utilizados no planejamento e as respectivas respostas encontradas durante os experimentos. Conforme a necessidade de todo planejamento multivariado, os experimentos foram aleatorizados. As respostas obtidas foram tratadas utilizando o STATISTICA® (StatSoft Inc, Statistica 8.0, StatSoft Inc, Tulsa, EUA, 2007) com um nível de confiança de 95%.

Tabela 19 Planejamento Box–Behnken para otimizar o método FBA–HG–AFS para determinação de Sb total em amostras de suco de uva.

Experimento	HCl (mol L ⁻¹)	NaBH ₄ (% m v ⁻¹)	Argônio (mL min ⁻¹)	Resposta
1	5 (-1)	2 (-1)	35 (0)	472,41
2	7 (+1)	2 (-1)	35 (0)	590,35
3	5 (-1)	4 (+1)	35 (0)	430,23
4	7 (+1)	4 (+1)	35 (0)	685,93
5	5 (-1)	3 (0)	15 (-1)	331,87
6	7 (+1)	3 (0)	15 (-1)	670,50
7	5 (-1)	3 (0)	55 (+1)	616,07
8	7 (+1)	3 (0)	55 (+1)	690,37
9	6 (0)	2 (-1)	15 (-1)	675,12
10	6 (0)	4 (+1)	15 (-1)	714,74
11	6 (0)	2 (-1)	55 (+1)	796,63
12	6 (0)	4 (+1)	55 (+1)	819,46
13	6 (0)	3 (0)	35 (0)	907,30
14	6 (0)	3 (0)	35 (0)	903,00
15	6 (0)	3 (0)	35 (0)	916,98

A **Equação 15** mostra, em valores codificados, a relação entre o sinal analítico de fluorescência atômica (R), a concentração em mol L⁻¹ de HCl, concentração de NaBH₄ em % (m v⁻¹) e a vazão de argônio em mL min⁻¹. A análise de variância (ANOVA) mostrou que o modelo matemático apresentado tem regressão significativa

e não apresenta falta de ajuste, mostrando que a região experimental está adequadamente descrita.

$$R = 909,09 + 98,32 \text{ HCl} + 14,48 \text{ NaBH}_4 + 66,29 \text{ argônio} - 269,32 (\text{HCl})^2 - 95,04 (\text{NaBH}_4)^2 - 62,56 (\text{argônio})^2 + 34,44 \text{ HCl NaBH}_4 - 66,08 \text{ HCl argônio} \quad (15)$$

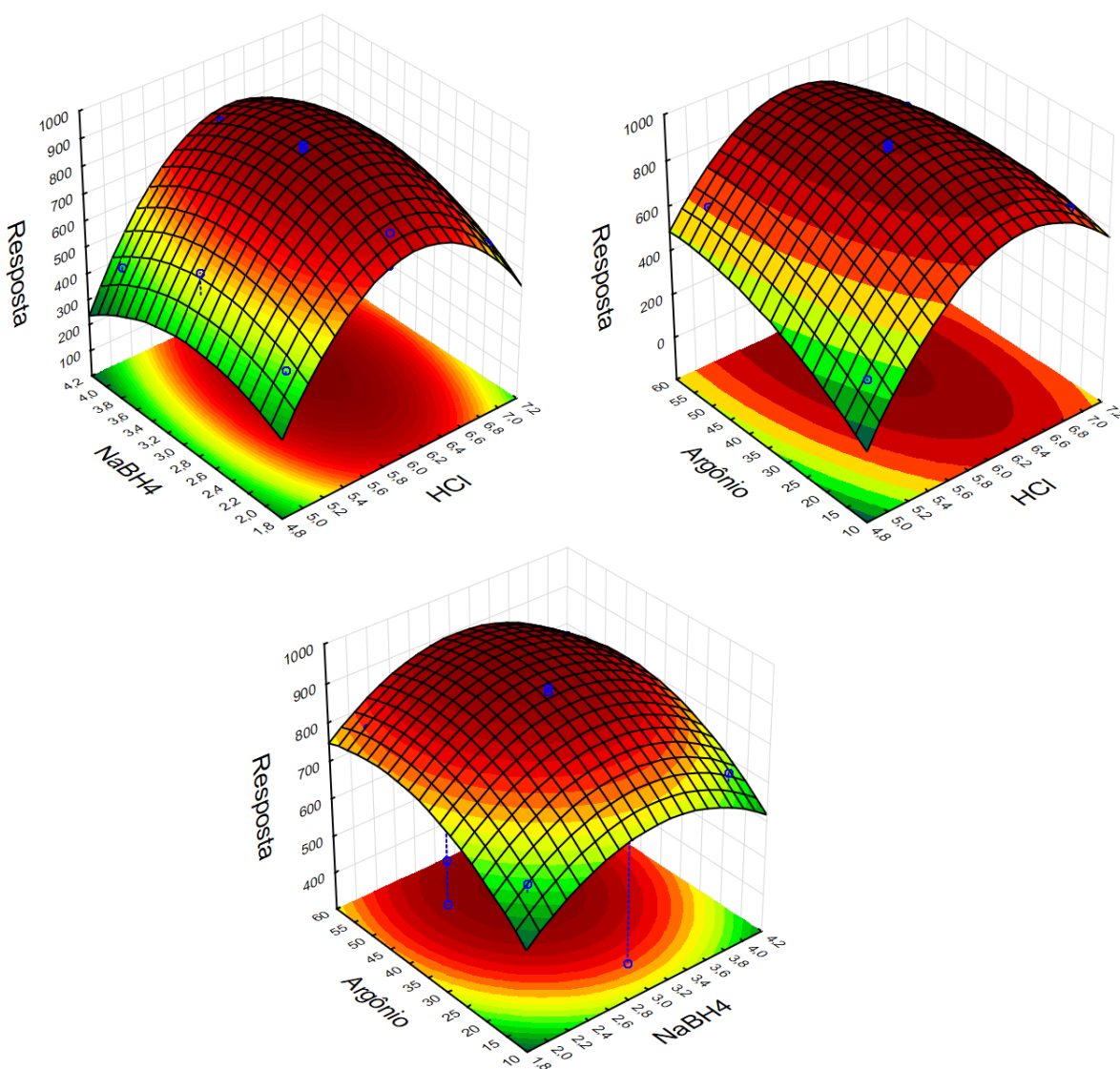


Figura 18 Superfícies de respostas obtidas do planejamento Box-Behnken para otimização da determinação direta de Sb em amostras de sucos de uva.

Esta equação mostra o ponto de máximo da superfície resposta, que compreende os valores de $6,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de concentração de HCl, $3,1 \text{ \% (m v}^{-1}\text{)}$ de concentração de NaBH_4 e $44,1 \text{ mL min}^{-1}$ de argônio. A **Figura 18** mostra as superfícies respostas descrita pela equação acima. Juntamente com os valores

fixados para acionamento das válvulas e os valores otimizados foram as condições ótimas estabelecidas para implementação do método de análise direta em amostras de suco de uva.

4.2.2 Parâmetros de desempenho e validação da curva analítica

O método automático, proposto para determinação direta de antimônio em amostras de suco de uva utilizando o sistema automático FBA-HG-AFS, foi validado conforme normas estabelecidas pela IUPAC. Sob condições ótimas estabelecidas, uma curva analítica entre 0,1 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ foi construída entre a concentração de Sb(III) e as repostas em altura de pico de fluorescência atômica. A curva apresentou comportamento linear que foi confirmado pela análise dos resultados da ANOVA.

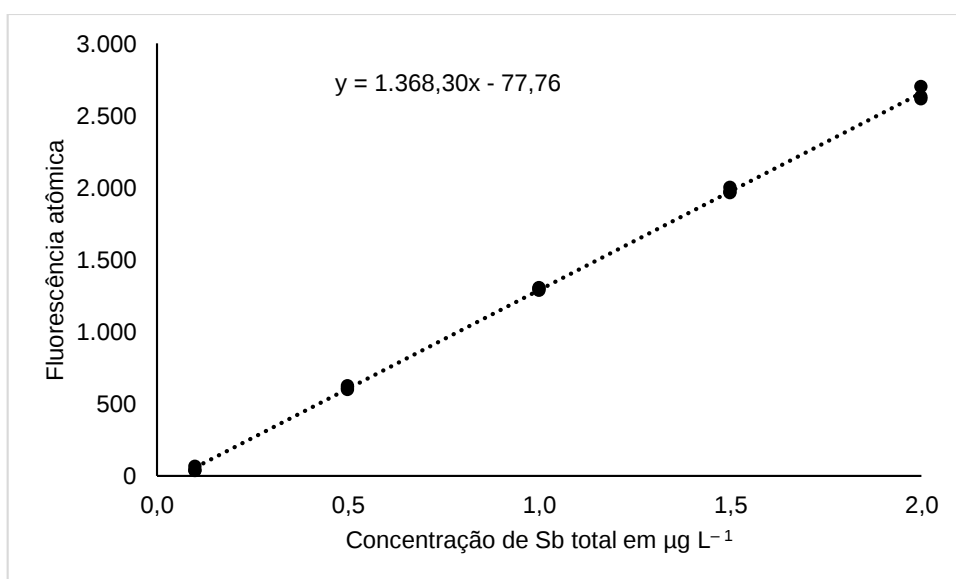


Figura 19 Curva analítica para determinação de Sb total em amostras de suco de uva.

Costumeiramente, antes de avaliar a significância estatística da regressão, a falta de ajuste é verificada. Para isso, comparou-se a razão MQ_{faj}/MQ_{ep} calculada com o valor tabelado, que para este caso é de 3,71 ($F_{3,10}$). Como valor calculado foi bem inferior ao valor tabelado, não existe evidência de falta de ajuste do modelo linear ajustado aos dados experimentais. Na avaliação da significância da regressão, a razão MQ_R/MQ_r calculada é comparada à tabelada, que neste caso é de 4,67 ($F_{1,13}$). A razão calculada foi muito superior ao valor tabelado, portanto, conclui-se que a regressão é altamente significativa.

Desta forma, a curva analítica foi validada para determinação de antimônio inorgânico total. A equação de regressão para o modelo foi $R = (-77,76 \pm 10,48) + (1.368,30 \pm 8,55) C$; onde R corresponde a resposta analítica (medições de altura de pico associadas às intensidades de fluorescência atômica), C a concentração de Sb total na faixa de trabalho de 0,1 a 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Esses intervalos de confiança estimados não contêm "zero", logo, os parâmetros são considerados significativos a 95% de confiança.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram estimados respectivamente em 3 e 10 vezes os desvios padrão do branco, de acordo com a IUPAC [197]. Trinta medidas em branco foram utilizadas para essa estimativa, onde os respectivos valores de LD e LQ foram de 0,02 e 0,066 $\mu\text{g L}^{-1}$.

4.2.3 Análise das amostras

Conforme exposto nas sessões anteriores, o método é adequado para a determinação de antimônio total em amostras reais. O resultado obtido pelo método FBA-HG-AFS é mostrado na **Tabela 20** e é comparado ao método de referência por geração de hidretos e detecção por fluorescência atômica. De acordo com os dados apresentados, há uma boa concordância entre os valores do método proposto e o da análise de referência. Quando aplicado o teste *t* pareado nos resultados obtidos pelos dois métodos, não há diferença estatisticamente significativa a um nível de 95% de confiança. As concentrações de antimônio total encontradas foram de $1,23 \pm 0,05$ a $4,58 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$.

No Brasil, a lista de limites máximos de tolerância para contaminantes em suco de fruta inclui 10 elementos-traço, dentre eles o antimônio, cujo limite máximo é de 1,0 mg L^{-1} . As amostras analisadas apresentaram concentrações de antimônio total bem abaixo do limite permitido no Brasil. Dessa forma, seu consumo não oferece riscos a saúde.

Tabela 20 Determinação de antimônio total em amostras de suco de uva ($\mu\text{g L}^{-1}$) usando o sistema automático FBA-HG-AFS e o método de referência por geração de hidretos e detecção por fluorescência atômica.

Amostras	FBA-HG-AFS		Referência	
	Sb total $\pm$ DP ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DPR%	Sb total $\pm$ DP ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DPR%
1	4,01 $\pm$ 0,10	3,10	3,95 $\pm$ 0,08	2,05
2	1,23 $\pm$ 0,05	3,56	1,26 $\pm$ 0,03	2,17
3	2,79 $\pm$ 0,10	3,70	2,85 $\pm$ 0,08	2,63
4	4,58 $\pm$ 0,10	3,45	4,62 $\pm$ 0,09	2,10
5	2,11 $\pm$ 0,08	3,08	1,98 $\pm$ 0,07	3,10
6	2,99 $\pm$ 0,10	3,20	2,84 $\pm$ 0,09	3,01

4.2.4 Testes de recuperação e características do sistema automático FBA-HG-AFS na determinação em amostras de suco de uva

Adicionalmente, foram realizados testes de recuperação nas seis amostras, que são mostrados na **Tabela 21**. Os testes de adição foram feitos nos níveis de 0,5, 2,0 e 4,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Conforme os dados apresentados, os testes indicaram que a precisão e exatidão foram satisfatórias. As recuperações variaram de $88,8 \pm 1,5$ até $116,2 \pm 1,2$ % para antimônio total.

Tabela 21 Teste de recuperação para as amostras de suco de uva.

Amostras	Recuperação (%)		
	0,5 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,0 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	4,0 ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	93,2 $\pm$ 1,5	97,6 $\pm$ 1,7	95,1 $\pm$ 2,0
2	89,5 $\pm$ 1,2	98,6 $\pm$ 1,3	104,4 $\pm$ 1,5
3	95,8 $\pm$ 1,6	101,8 $\pm$ 1,8	97,7 $\pm$ 1,8
4	104,3 $\pm$ 1,4	98,9 $\pm$ 1,9	94,2 $\pm$ 2,0
5	88,8 $\pm$ 1,5	106,4 $\pm$ 1,5	116,2 $\pm$ 1,2
6	106,2 $\pm$ 1,8	102,3 $\pm$ 1,7	107,5 $\pm$ 1,9

A determinação direta de antimônio total em amostras de suco de uva utilizando o método FBA-HG-AFS apresentou baixo consumo de reagentes e amostras, e baixa geração de resíduos, em que o volume total gerado por análise foi de 1.150 μL . A determinação de Sb total foi realizada em 41 s, assim, foi possível realizar cerca de 87 determinações por hora.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 CONCLUSÕES

Neste trabalho de pesquisa, foi desenvolvido um novo método analítico automático que alia a interessante estratégia de remoção do analito da matriz de interesse através da geração de hidretos. O sistema automático fluxo-batelada propicia excelentes características analíticas a essa técnica, sendo a sua interação explorada pela primeira vez. Deste modo, foi possível implementar esta nova aplicação automática envolvendo a geração de hidretos.

Para lograr êxito na realização deste trabalho, o primeiro objetivo foi o desenvolvimento do sistema automático e o acoplamento eficiente com o espectrômetro de fluorescência atômica. Isso foi possível mediante a conexão entre a saída superior da câmara FB-GLS e a entrada na membrana de secagem do equipamento de forma que o caminho fosse o menor possível para minimizar a dispersão dos hidretos formados.

Para a homogeneização da mistura, formação dos hidretos e separação gás-líquido *on-line* de forma eficiente, uma câmara de mistura com seis canais de entrada, um canal de saída inferior e outro superior, foi confeccionada em politetrafluoretileno. Ao contrário dos métodos de fluxo automáticos desenvolvidos anteriormente, que usam fluidos confluentes e dispositivos complexos, a principal vantagem do método FBA-HG-AFS proposto foi o uso inovador de uma câmara de mistura simples feita em laboratório. O procedimento automático desenvolvido para especiação de antimônio inorgânico e determinação de antimônio total foi aplicado com sucesso mediante o uso do software de controle desenvolvido em ambiente Labview para administração de cada etapa das análises.

A determinação e especiação de antimônio inorgânico nas amostras aquosas foi satisfatória, rápida e sensível graças à metodologia escolhida, na qual o iodeto de potássio foi utilizado como agente de pré-redução e o Sb(V) foi mascarado previamente antes das análises. Dessa forma, a quantificação das espécies de Sb total e Sb(III) juntamente com as etapas de limpeza foi realizada em um pouco mais de um minuto, o que proporcionou excelentes frequências analíticas frente aos outros sistemas automáticos com a mesma proposta, além de ter gerado baixíssimo resíduo. O procedimento conseguiu quantificar e especiar as espécies de antimônio presentes

em nível de nanograma por litro. A análise da amostra de referência e os testes de recuperação mostram a robustez e confiabilidade do método.

A extração ácida *on-line* de antimônio total em amostras de suco de uva foi realizada com sucesso pelo ácido clorídrico à 6 mol L⁻¹ em um curto intervalo de tempo de 5,0 s. Com isso, foi possível implementar a análise automática direta de antimônio total nas amostras. No procedimento, após a extração do antimônio, o iodeto de potássio promoveu a pré-redução das espécies de Sb presentes a Sb(III) e, após a adição de borohidreto de sódio, o hidretos de antimônio foram gerados e o antimônio total foi quantificado. Desde a extração de antimônio e geração de hidretos direta nas amostras, foi necessário um tempo de 41 s para a determinação de antimônio total, juntamente com a etapa de limpeza da câmara FB-GLS. Além disso, a análise direta não mostrou diferença estatística com o método de referência a 95% de confiança. Dado a escassez de poucos sistemas automáticos para determinação de metais em nível traço em amostras de suco, e também da necessidade monitoramento nesse tipo de bebida que apresenta um consumo considerável, este método contribuí enormemente para que as análises de rotina nesse tipo de amostras sejam realizadas com a devida agilidade e confiabilidade.

Deste modo, se permite enfatizar, que por meio da união da fluorescência atômica, geração de hidretos e automação analítica, através do sistema fluxo-batelada, podemos vislumbrar o desenvolvimento efetivo de modernas metodologias com aplicações direcionadas, sensíveis e seletivas cada vez mais requeridas para análises de rotina. A estratégia não cromatográfica desenvolvida para determinação de Sb(V), Sb(III) e Sb total pelo método FBA-HG-AFS oferece uma alternativa simples e sensível às técnicas hifenizadas para análise de especiação. Da mesma forma, a determinação direta nas amostras de suco de uva, oferece um passo simples e bastante rápido frente aos procedimentos de referência geralmente empregados para esse tipo de amostra.

5.2 PERSPECTIVAS

Durante o desenvolvimento da presente pesquisa, foi possível vislumbrar as seguintes perspectivas que podem vir a ser exploradas em pesquisas posteriores.

- Desenvolver novos procedimentos automáticos com geração de hidretos e o sistema fluxo-batelada para determinação de elementos traço em diferentes matrizes como: medicamentos, combustíveis e alimentos.
- Utilizar o sistema desenvolvido em espectrômetro de fluorescência atômica com multidetecção, proporcionando uma detecção simultânea de mais de um analito;
- Utilizar o sistema desenvolvido para determinação de outros analitos que formam hidretos;
- Utilizar o sistema desenvolvido na determinação de analitos que formam vapor frio;
- Desenvolver um sistema de detecção portátil para ser acoplado logo após a saída da câmara FB-GLS, para análises ainda mais rápidas proporcionando medidas analíticas ainda mais sensíveis;
- Miniaturizar o sistema fluxo-batelada desenvolvido, minimizando ainda mais a quantidade de reagentes e amostra, bem como a geração de resíduos;
- Integrar outras formas de detecção, a exemplo do ICP-OES e ICP-MS, ao sistema automático fluxo-batelada;

REFERÊNCIAS

- [1] K. Bencze, Handbook on metals in clinical and analytical chemistry, H. G. Seiler, A. Sigel, & H. Sigel. M. Dekker, New York, 1994.
- [2] M. Filella, P.A. Williams, N. Belzile, Antimony in the environment: knowns and unknowns, *Environmental Chemistry*. 6 (2009) 95.
<https://doi.org/10.1071/EN09007>.
- [3] M. He, J. Yang, 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*. 243–244 (1999) 149–155.
[https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00370-8](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00370-8).
- [4] M. Filella, N. Belzile, Y.-W. Chen, Antimony in the environment: a review focused on natural waters, *Earth-Science Reviews*. 59 (2002) 265–285.
[https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(02\)00089-2](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(02)00089-2).
- [5] S. Sundar, J. Chakravarty, Antimony Toxicity, *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 7 (2010) 4267–4277.
<https://doi.org/10.3390/ijerph7124267>.
- [6] I. Herath, M. Vithanage, J. Bundschuh, Antimony as a global dilemma: Geochemistry, mobility, fate and transport, *Environmental Pollution*. 223 (2017) 545–559. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.057>.
- [7] R. Cornelis, Handbook of Elemental Speciation II, JohnWiley & Sons Ltd, Chichester, England, 2005.
- [8] D. Amarasingiwardena, F. Wu, Antimony: Emerging toxic contaminant in the environment, *Microchemical Journal*. 97 (2011) 1–3.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2010.07.009>.
- [9] USEPA, Integrated Risk Information System (IRIS) on Antimony, 1999. U.S. Environmental Protection Agency - National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC, 1999.
- [10] WHO, Guidelines for drinking-water quality, 4th ed., 2011.
https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/ (accessed January 31, 2019).
- [11] M. da Saúde, Port. nº 685 de 28/8/1998, 1965.
- [12] S.L.C. Ferreira, W.N.L. dos Santos, I.F. dos Santos, M.M.S. Junior, L.O.B. Silva, U.A. Barbosa, F.A. de Santana, A.F. de S. Queiroz, Strategies of sample preparation for speciation analysis of inorganic antimony using hydride generation atomic spectrometry, *Microchemical Journal*. 114 (2014) 22–31.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.11.019>.

- [13] Zhou Longa, Yamin Luoa, Chengbin Zhenga, Pengchi Dengb, Xiandeng Houab, Recent Advance of Hydride Generation–Analytical Atomic Spectrometry: Part I—Technique Development, *Applied Spectroscopy Reviews*. 47 (2012) 382–413. <https://doi.org/10.1080/05704928.2012.666775>.
- [14] Jirií Dedina, Dimiter L. Tsalev, *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*, John Wiley, Chichester, 1995.
<http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-0471953644.html> (accessed September 5, 2016).
- [15] D. Sánchez-Rodas, W.T. Corns, B. Chen, P.B. Stockwell, Atomic Fluorescence Spectrometry: a suitable detection technique in speciation studies for arsenic, selenium, antimony and mercury, *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 933. <https://doi.org/10.1039/b917755h>.
- [16] P.H.G.D. Diniz, L.F. de Almeida, D.P. Harding, M.C.U. de Araújo, Flow-batch analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 35 (2012) 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.02.009>.
- [17] C.A. Tylanda, B.A. Fowler, Antimony. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T., in: *Handbook on the Toxicology of Metals*, 3rd ed., Oxford: Academic Press Inc, 2007: pp. 353–365.
- [18] L.M. Wedepohl, H.V. Nguyen, G.D. Irwin, Frequency-dependent transformation matrices for untransposed transmission lines using Newton-Raphson method, *IEEE Trans. Power Syst.* 11 (1996) 1538–1546. <https://doi.org/10.1109/59.535695>.
- [19] M. Sadeghi, M. Enferadi, M. Aboudzadeh, P. Sarabadani, Production of ^{122}Sb for the study of environmental pollution, *J Radioanal Nucl Chem.* 287 (2011) 585–589. <https://doi.org/10.1007/s10967-010-0786-z>.
- [20] M. Filella, N. Belzile, Y.-W. Chen, Antimony in the environment: a review focused on natural waters, *Earth-Science Reviews*. 57 (2002) 125–176. [https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(01\)00070-8](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(01)00070-8).
- [21] C.G. Anderson, The metallurgy of antimony, *Chemie Der Erde - Geochemistry*. 72 (2012) 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.chemer.2012.04.001>.
- [22] D. R. Lide, *Handbook of Chemistry and Physics 74yh Edition*, 74th ed., CRC Press, 1993.
- [23] A. Pierart, M. Shahid, N. Séjalon-Delmas, C. Dumat, Antimony bioavailability: Knowledge and research perspectives for sustainable agricultures, *Journal of Hazardous Materials*. 289 (2015) 219–234. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.011>.

- [24] M. Ahmad, S.S. Lee, J.E. Lim, S.-E. Lee, J.S. Cho, D.H. Moon, Y. Hashimoto, Y.S. Ok, Speciation and phytoavailability of lead and antimony in a small arms range soil amended with mussel shell, cow bone and biochar: EXAFS spectroscopy and chemical extractions, *Chemosphere*. 95 (2014) 433–441. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.09.077>.
- [25] G. Okkenhaug, K.-A. Grasshorn Gebhardt, K. Amstaetter, H. Lassen Bue, H. Herzel, E. Mariussen, Å. Rossebø Almås, G. Cornelissen, G.D. Breedveld, G. Rasmussen, J. Mulder, Antimony (Sb) and lead (Pb) in contaminated shooting range soils: Sb and Pb mobility and immobilization by iron based sorbents, a field study, *Journal of Hazardous Materials*. 307 (2016) 336–343. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.01.005>.
- [26] A.U. Rajapaksha, M. Ahmad, M. Vithanage, K.-R. Kim, J.Y. Chang, S.S. Lee, Y.S. Ok, The role of biochar, natural iron oxides, and nanomaterials as soil amendments for immobilizing metals in shooting range soil, *Environ Geochem Health*. 37 (2015) 931–942. <https://doi.org/10.1007/s10653-015-9694-z>.
- [27] X. Wang, M. He, J. Xi, X. Lu, Antimony distribution and mobility in rivers around the world's largest antimony mine of Xikuangshan, Hunan Province, China, *Microchemical Journal*. 97 (2011) 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2010.05.011>.
- [28] W. Shotyk, M. Krachler, B. Chen, Antimony: global environmental contaminant, *J Environ Monit*. 7 (2005) 1135–1136. <https://doi.org/10.1039/b515468p>.
- [29] M. Krachler, J. Zheng, R. Koerner, C. Zdanowicz, D. Fisher, W. Shotyk, Increasing atmospheric antimony contamination in the northern hemisphere: snow and ice evidence from Devon Island, Arctic Canada, *J. Environ. Monit*. 7 (2005) 1169. <https://doi.org/10.1039/b509373b>.
- [30] M. Patriarca, A. Menditto, B. Rossi, T.D.B. Lyon, G.S. Fell, Environmental exposure to metals of newborns, infants and young children, *Microchemical Journal*. 67 (2000) 351–361. [https://doi.org/10.1016/S0026-265X\(00\)00088-6](https://doi.org/10.1016/S0026-265X(00)00088-6).
- [31] M. Briki, H. Ji, C. Li, H. Ding, Y. Gao, Characterization, distribution, and risk assessment of heavy metals in agricultural soil and products around mining and smelting areas of Hezhang, China, *Environ Monit Assess*. 187 (2015) 767. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4951-2>.
- [32] M. Filella, N. Belzile, M.-C. Lett, Antimony in the environment: A review focused on natural waters. III. Microbiota relevant interactions, *Earth-Science Reviews*. 80 (2007) 195–217. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2006.09.003>.
- [33] T.C.M. Matsubara, Estudo sobre a determinação de antimônio em amostras ambientais pelo método de análise..., Tese de Doutorado, 2011.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-21112011-094305/pt-br.php> (accessed June 21, 2018).

- [34] C. Baird, Química Ambiental, 2^a ed, Bookman, Porto Alegre, 2002.
<https://indicalivros.com/pdf/quimica-ambiental-colin-baird> (accessed June 21, 2018).
- [35] S.C. Wilson, P.V. Lockwood, P.M. Ashley, M. Tighe, The chemistry and behaviour of antimony in the soil environment with comparisons to arsenic: A critical review, *Environmental Pollution*. 158 (2010) 1169–1181.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.10.045>.
- [36] Flavia de Almeida Vieira, Estudos sobre o comportamento do antimoniato de meglumina no corpo humano e em macacos Rhesus, PUC, 2008.
- [37] U.S. Geological Survey, Mineral commodity summaries 2019, U.S. Geological Survey, USA, 2019. https://prd-wret.s3-us-west-2.amazonaws.com/assets/palladium/production/atoms/files/mcs2019_all.pdf (accessed May 6, 2019).
- [38] P.H.M. Kiyataka, S.T. Dantas, A.C. Albino, J.A.L. Pallone, Antimony Assessment in PET Bottles for Soft Drink, *Food Anal. Methods*. 11 (2018) 1–9.
<https://doi.org/10.1007/s12161-017-0951-x>.
- [39] I.D. Ferreira, D.M. Morita, Biodegradação de alcoóis, ftalatos e adipatos em um solo tropical contaminado, *Quím. Nova*. 33 (2010) 1686–1691.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000800013>.
- [40] S. Carneado, E. Hernández-Nataren, J.F. López-Sánchez, A. Sahuquillo, Migration of antimony from polyethylene terephthalate used in mineral water bottles, *Food Chemistry*. 166 (2015) 544–550.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.041>.
- [41] Y.-Y. Fan, J.-L. Zheng, J.-H. Ren, J. Luo, X.-Y. Cui, L.Q. Ma, Effects of storage temperature and duration on release of antimony and bisphenol A from polyethylene terephthalate drinking water bottles of China, *Environmental Pollution*. 192 (2014) 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.05.012>.
- [42] R.K. Grasselli, Advances and future trends in selective oxidation and ammoxidation catalysis, *Catalysis Today*. 49 (1999) 141–153.
[https://doi.org/10.1016/S0920-5861\(98\)00418-0](https://doi.org/10.1016/S0920-5861(98)00418-0).
- [43] F. Fujiwara, R.J. Rebagliati, J. Marrero, D. Gómez, P. Smichowski, Antimony as a traffic-related element in size-fractionated road dust samples collected in Buenos Aires, *Microchemical Journal*. 97 (2011) 62–67.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2010.05.006>.

- [44] V.G. Mihucz, G. Záray, Occurrence of antimony and phthalate esters in polyethylene terephthalate bottled drinking water, *Applied Spectroscopy Reviews*. 51 (2016) 183–209. <https://doi.org/10.1080/05704928.2015.1105243>.
- [45] A.M. El-Hassan, S.E.O. Meredith, H.I. Yagi, E.A.G. Khalil, H.W. Ghalib, K. Abbas, E.E. Zijlstra, C.C.M. Kroon, G.J. Schoone, A. Ismail, Sudanese mucosal leishmaniasis: epidemiology, clinical features, diagnosis, immune responses and treatment, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 89 (1995) 647–652. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(95\)90428-X](https://doi.org/10.1016/0035-9203(95)90428-X).
- [46] S.J. Santosa, H. Mokudai, S. Tanaka, Automated Continuous-flow Hydride Generation with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric Detection for the Determination of Trace Amounts of Selenium(iv), and Total Antimony, Arsenic and Germanium in Sea-water, *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 409–415. <https://doi.org/10.1039/a605545a>.
- [47] Legislação – Resolução CONAMA 357/05, n.d. <http://www.meioambiente.ufrn.br/ete/?p=340> (accessed June 20, 2018).
- [48] PORTARIA Nº 2.914, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2011, n.d. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html (accessed May 15, 2019).
- [49] USEPA, National Primary Drinking Water Regulations, 2009. <http://water.epa.gov/drink/contaminants/upload/mcl-2.pdf>. (accessed May 15, 2019).
- [50] C. of the European Communities, Council Directive 76/464/EEC of 4 May 1976 on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the community, *J.L.* 129 (1976) 23–29.
- [51] RESOLUÇÃO CONAMA no 396, de 3 de abril de 2008, n.d. <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=562> (accessed May 15, 2019).
- [52] M. Sánchez-Martínez, T. Pérez-Corona, C. Cámara, Y. Madrid, Migration of antimony from PET containers into regulated EU food simulants, *Food Chemistry*. 141 (2013) 816–822. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.067>.
- [53] P. Westerhoff, P. Prapaipong, E. Shock, A. Hillaireau, Antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water, *Water Research*. 42 (2008) 551–556. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.07.048>.
- [54] F. Welle, R. Franz, Migration of antimony from PET bottles into beverages: determination of the activation energy of diffusion and migration modelling

compared with literature data, Food Additives & Contaminants: Part A. 28 (2011) 115–126. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.530296>.

- [55] L. Payán, M.T. Poyatos, L. Muñoz, M.D. La Rubia, R. Pacheco, N. Ramos, Study of the influence of storage conditions on the quality and migration levels of antimony in polyethylene terephthalate-bottled water, Food Sci. Technol. Int. 23 (2017) 318–327. <https://doi.org/10.1177/1082013217690300>.
- [56] C. Reimann, M. Birke, P. Filzmoser, Temperature-dependent leaching of chemical elements from mineral water bottle materials, Applied Geochemistry. 27 (2012) 1492–1498. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2012.05.003>.
- [57] C. Bach, X. Dauchy, I. Severin, J.-F. Munoz, S. Etienne, M.-C. Chagnon, Effect of sunlight exposure on the release of intentionally and/or non-intentionally added substances from polyethylene terephthalate (PET) bottles into water: Chemical analysis and in vitro toxicity, Food Chemistry. 162 (2014) 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.020>.
- [58] L.M.R. Mello, <http://www.cnpuv.embrapa.br>, Embrapa Uva e Vinho. (2019). <https://www.embrapa.br/uva-e-vinho> (accessed May 10, 2019).
- [59] C. Hansen, A. Tsirigotaki, S.A. Bak, S.A. Pergantis, S. Stürup, B. Gammelgaard, H.R. Hansen, Elevated antimony concentrations in commercial juices, J. Environ. Monit. 12 (2010) 822. <https://doi.org/10.1039/b926551a>.
- [60] Y. Xia, Determination of antimony in water, beverages, and fruits, (2011). <https://doi.org/10.7939/r3r65n>.
- [61] A. Szymczycha-Madeja, M. Welna, D. Jedryczko, P. Pohl, Developments and strategies in the spectrochemical elemental analysis of fruit juices, TrAC Trends in Analytical Chemistry. 55 (2014) 68–80. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.12.005>.
- [62] R.A. de Assis, I.L. Küchler, N.M. e C.L.P. da Silveira, Elementos-traço e sódio em suco de uva: aspectos nutricionais e toxicológicos, Quimica Nova. 31 (2008) 1948–1952.
- [63] N. Altunay, R. Gürkan, A new cloud point extraction procedure for determination of inorganic antimony species in beverages and biological samples by flame atomic absorption spectrometry, Food Chemistry. 175 (2015) 507–515. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.012>.
- [64] Y.-A. Lin, S.-J. Jiang, A.C. Sahayam, Determination of antimony compounds in waters and juices using ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, Food Chemistry. 230 (2017) 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.014>.

- [65] M. Krachler, J. Zheng, D. Fisher, W. Shotyk, Natural background levels of atmospheric antimony, variation with climate change and modern enrichments revealed by age-dated snow and ice samples from Devon Island, Arctic, Canada, *Global Biogeochem. Cycles*. 22 (2008) 1015.
- [66] US EPA, US EPA. (n.d.). <https://www.epa.gov/> (accessed January 31, 2019).
- [67] Y.M. Nakamaru, J. Altansuvd, Speciation and bioavailability of selenium and antimony in non-flooded and wetland soils: A review, *Chemosphere*. 111 (2014) 366–371. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.024>.
- [68] P. Smichowski, Antimony in the environment as a global pollutant: A review on analytical methodologies for its determination in atmospheric aerosols, *Talanta*. 75 (2008) 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.11.005>.
- [69] G. Ungureanu, S. Santos, R. Boaventura, C. Botelho, Arsenic and antimony in water and wastewater: Overview of removal techniques with special reference to latest advances in adsorption, *Journal of Environmental Management*. 151 (2015) 326–342. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.12.051>.
- [70] N. Belzile, Y.-W. Chen, M. Filella, Human Exposure to Antimony: I. Sources and Intake, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 41 (2011) 1309–1373. <https://doi.org/10.1080/10643381003608227>.
- [71] P. Smichowski, Y. Madrid, C. Cámara, Analytical methods for antimony speciation in waters at trace and ultratrace levels. A review, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 360 (1998) 623–629. <https://doi.org/10.1007/s002160050770>.
- [72] A. Léonard, G.B. Gerber, Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of antimony compounds, *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*. 366 (1996) 1–8. [https://doi.org/10.1016/S0165-1110\(96\)90003-2](https://doi.org/10.1016/S0165-1110(96)90003-2).
- [73] T. Gebel, Arsenic and antimony: comparative approach on mechanistic toxicology, *Chemico-Biological Interactions*. 107 (1997) 131–144. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(97\)00087-2](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(97)00087-2).
- [74] P.D. Santos, Determinação de espécies de arsênio, antimônio e chumbo em antimoniato de meglumina por espectrometria de absorção atômica após extração em fase sólida, Universidade Federal de Santa Maria, 2006.
- [75] ATSDR, Toxicological Profile for Antimony and Compounds, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, 2017. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp23.pdf>.

- [76] E. de Oliveira, Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends, *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 14 (2003) 174–182. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000200004>.
- [77] L. Tormen, D.P. Torres, I.M. Dittert, R.G.O. Araújo, V.L.A. Frescura, A.J. Curtius, Rapid assessment of metal contamination in commercial fruit juices by inductively coupled mass spectrometry after a simple dilution, *Journal of Food Composition and Analysis*. 24 (2011) 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.06.004>.
- [78] Y. Liu, B. Gong, Z. Li, Y. Xu, T. Lin, Direct determination of selenium in a wild fruit juice by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta*. 43 (1996) 985–989. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(95\)01800-X](https://doi.org/10.1016/0039-9140(95)01800-X).
- [79] Z. Krejpcio, S. Sionkowski, J. Bartela, Safety of Fresh Fruits and Juices Available on the Polish Market as Determined by Heavy Metal Residues, *Pol. J. Environ. Stud*. 14 (2005) 877–881.
- [80] A.P. Oliveira, J.A.G. Neto, J.A. Nóbrega, P.R.M. Correia, P.V. Oliveira, Determination of selenium in nutritionally relevant foods by graphite furnace atomic absorption spectrometry using arsenic as internal standard, *Food Chemistry*. 93 (2005) 355–360. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.024>.
- [81] R.E.S. Froes, W.B. Neto, N.O.C. e Silva, R.L.P. Naveira, C.C. Nascentes, J.B.B. da Silva, Multivariate optimization by exploratory analysis applied to the determination of microelements in fruit juice by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 64 (2009) 619–622. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2009.06.006>.
- [82] W.A. Simpkins, H. Louie, M. Wu, M. Harrison, D. Goldberg, Trace elements in Australian orange juice and other products, *Food Chemistry*. 71 (2000) 423–433. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00150-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00150-3).
- [83] X. Li, I. Thornton, Arsenic, antimony and bismuth in soil and pasture herbage in some old metalliferous mining areas in England, *Environ Geochem Health*. 15 (1993) 135–144. <https://doi.org/10.1007/BF02627831>.
- [84] L. Husáková, I. Urbanová, J. Šrámková, T. Černohorský, A. Krejčová, M. Bednaříková, E. Frýdová, I. Nedělková, L. Pilařová, Analytical capabilities of inductively coupled plasma orthogonal acceleration time-of-flight mass spectrometry (ICP-oe-TOF-MS) for multi-element analysis of food and beverages, *Food Chemistry*. 129 (2011) 1287–1296. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.047>.
- [85] D. Cautela, F. Santelli, F. Boscaino, B. Laratta, L. Servillo, D. Castaldo, Elemental content and nutritional study of blood orange juice, *Journal of the*

Science of Food and Agriculture. 89 (2009) 2283–2291.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.3722>.

- [86] M. Welna, A. Szymczycha-Madeja, P. Pohl, 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*. 47 (2014) 2104–2119.
<https://doi.org/10.1080/00032719.2014.898151>.
- [87] H. Rütz Hansen, S.A. Pergantis, Detection of antimony species in citrus juices and drinking water stored in PET containers, *J. Anal. At. Spectrom.* 21 (2006) 731–733. <https://doi.org/10.1039/B606367E>.
- [88] R.G. Pellerano, S.S. Mazza, R.A. Marigliano, E.J. Marchevsky, Multielement Analysis of Argentinean Lemon Juices by Instrumental Neutronic Activation Analysis and Their Classification According to Geographical Origin, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 5222–5225. <https://doi.org/10.1021/jf073555n>.
- [89] F. Elhadri, A. Moralesrubio, M. Delaguardia, Determination of total arsenic in soft drinks by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Food Chemistry*. 105 (2007) 1195–1200.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.025>.
- [90] M. Marcinkowska, W. Lorenc, D. Barańkiewicz, Study of the impact of bottles material and color on the presence of As III , As V , Sb III , Sb V and Cr VI in matrix-rich mineral water — Multielemental speciation analysis by HPLC/ICP-DRC-MS, *Microchemical Journal*. 132 (2017) 1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.11.022>.
- [91] M. Burguera, J.L. Burguera, Flow injection–electrothermal atomic absorption spectrometry for arsenic speciation using the Fleitmann reaction, *J. Anal. At. Spectrom.* 8 (1993) 229–233. <https://doi.org/10.1039/JA9930800229>.
- [92] D.M. Templeton, F. Ariese, R. Cornelis, L.-G. Danielsson, H. Muntau, H.P. van Leeuwen, R. Lobinski, Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC Recommendations 2000), *Pure and Applied Chemistry*. 72 (2000) 1453–1470. <https://doi.org/10.1351/pac200072081453>.
- [93] J.C. Van Loon, R.R. Barefoot, Overview of analytical methods for elemental speciation, *Analyst*. 117 (1992) 563. <https://doi.org/10.1039/an9921700563>.
- [94] S.L. Costa Ferreira, J.P. dos Anjos, C.S. Assis Felix, M.M. da Silva Junior, E. Palacio, V. Cerda, Speciation analysis of antimony in environmental samples employing atomic fluorescence spectrometry – Review, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 110 (2019) 335–343.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.11.017>.

- [95] A. Samadi-Maybodi, V. Rezaei, A cloud point extraction for spectrophotometric determination of ultra- trace antimony without chelating agent in environmental and biological samples, *Microchim Acta*. 178 (2012) 399–404. <https://doi.org/10.1007/s00604-012-0852-z>.
- [96] A. Calvo Fornieles, A. García de Torres, E. Vereda Alonso, M.T. Siles Cordero, J.M. Cano Pavón, Speciation of antimony(III) and antimony(V) in seawater by flow injection solid phase extraction coupled with online hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 26 (2011) 1619-. <https://doi.org/10.1039/c0ja00273a>.
- [97] C. Zeng, F. Yang, N. Zhou, Hollow fiber supported liquid membrane extraction coupled with thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry for the speciation of Sb(III) and Sb(V) in environmental and biological samples, *Microchemical Journal*. 98 (2011) 307–311. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.02.016>.
- [98] J.M. Serafimovska, S. Arpadjan, T. Stafilov, Speciation of dissolved inorganic antimony in natural waters using liquid phase semi-microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry, *Microchemical Journal*. 99 (2011) 46–50. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.03.011>.
- [99] Z. Fan, Determination of antimony(III) and total antimony by single-drop microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*. 585 (2007) 300–304. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.12.034>.
- [100] S.R. Yousefi, F. Shemirani, M.R. Jamali, Determination of Antimony(III) and Total Antimony in Aqueous Samples by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry After Dispersive Liquid–Liquid Microextraction (DLLME), *Analytical Letters*. 43 (2010) 2563–2571.
- [101] F. dos S. Depoi, D. Pozebon, The use of cloud point extraction and hydride generation for improving the Sb and Se limits of detection in ICP OES, *J. Braz. Chem. Soc*. 23 (2012) 2211–2221. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532012001200010>.
- [102] Maja Welna, Wieslaw Zyrnicki, Investigation of Simultaneous Generation of Arsenic, Bismuth and Antimony Hydrides Using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, *Analytical Letters*. 44 (2011) 942–953. <https://doi.org/10.1080/00032711003790080>.
- [103] Y.-L. Feng, H. Narasaki, H.-Y. Chen, L.-C. Tian, Speciation of antimony(III) and antimony(V) using hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry combined with the rate of pre-reduction of antimony, *Analytica Chimica Acta*. 386 (1999) 297–304. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00007-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00007-0).

- [104] M.B. Dessuy, R.M. de Jesus, G.C. Brandao, S.L.C. Ferreira, M.G.R. Vale, B. Welz, Fast sequential determination of antimony and lead in pewter alloys using high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry, *Food Additives & Contaminants: Part A*. 30 (2013) 202–207. <https://doi.org/10.1080/19440049.2012.729137>.
- [105] Y. Li, B. Hu, Z. Jiang, On-line cloud point extraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for the speciation of inorganic antimony in environmental and biological samples, *Analytica Chimica Acta*. 576 (2006) 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.06.018>.
- [106] C. Bosch Ojeda, F. Sánchez Rojas, J.M. Cano Pavón, L. Terrer Martín, Use of 1,5-bis(di-2-pyridyl)methylene thiocarbohydrazide immobilized on silica gel for automated preconcentration and selective determination of antimony(III) by flow-injection electrothermal atomic absorption spectrometry, *Anal Bioanal Chem*. 382 (2005) 513–518. <https://doi.org/10.1007/s00216-004-2691-1>.
- [107] A. Afkhami, T. Madrakian, A. Abdolmaleki, Sensitive Kinetic-Spectrophotometric Determination of SbIII Based on Its Inhibitory Effect on the Decolorization Reaction of Methyl Orange, *Croatica Chemica Acta (CCA@chem.Pmf.Hr)*; Vol.78 No.4. 78 (2005).
- [108] T. Madrakian, E. Bozorgzadeh, Spectrophotometric determination of Sb(III) and Sb(V) in biological samples after micelle-mediated extraction, *Journal of Hazardous Materials*. 170 (2009) 809–813. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.05.036>.
- [109] R. Michalski, S. Szopa, M. Jabłońska, A. Łyko, Application of Hyphenated Techniques in Speciation Analysis of Arsenic, Antimony, and Thallium, *The Scientific World Journal*. 2012 (2012) 1–17. <https://doi.org/10.1100/2012/902464>.
- [110] W. Maher, F. Krikowa, M. Ellwood, S. Foster, R. Jagtap, G. Raber, Overview of hyphenated techniques using an ICP-MS detector with an emphasis on extraction techniques for measurement of metalloids by HPLC–ICPMS, *Microchemical Journal*. 105 (2012) 15–31. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.03.017>.
- [111] Y. Li, J.-M. Liu, F. Han, Y. Jiang, X.-P. Yan, Probing interactions of antimony species with DNA by short column capillary electrophoresis coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom*. 26 (2011) 94–99. <https://doi.org/10.1039/C0JA00079E>.
- [112] M. Lu, N.V. Rees, R.G. Compton, Determination of Sb(V) Using Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry at an Unmodified Edge Plane Pyrolytic

Graphite Electrode, *Electroanalysis*. 24 (2012) 1306–1310.
<https://doi.org/10.1002/elan.201200153>.

- [113] P. Zong, J. Long, Y. Nagaosa, Determination of total antimony(III,V) by square-wave anodic stripping voltammetry with *in situ* plated bismuth-film electrode, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 91 (2011) 421–430. <https://doi.org/10.1080/03067310903267331>.
- [114] M.S. El-Shahawi, A.S. Bashammakh, A.A. Al-Sibaai, S.O. Bahaffi, E.H. Al-Gohani, Chemical Speciation of Antimony(III and V) in Water by Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry Using the 4-(2-Thiazolylazo) - Resorcinol, *Electroanalysis*. 23 (2010) 747–754. <https://doi.org/10.1002/elan.201000505>.
- [115] P. Zong, Y. Nagaosa, Determination of antimony(III) and (V) in natural water by cathodic stripping voltammetry with in-situ plated bismuth film electrode, *Microchim Acta*. 166 (2009) 139–144. <https://doi.org/10.1007/s00604-009-0176-9>.
- [116] J. Zhang, G. Zhang, C. Zhao, X. Quan, Q. Jia, On-line preconcentration/separation of inorganic arsenic and antimony by poly (aryl ether ketone) containing pendant carboxyl groups prior to microwave plasma atomic spectrometry determinations, *Microchemical Journal*. 100 (2012) 95–99. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.09.012>.
- [117] N. Miskolczi, W.J. Hall, N. Borsodi, P.T. Williams, A. Angyal, A comparison of different analytical techniques (energy dispersive X-ray fluorescent spectrometry, bomb calorimetry combined with ion chromatography and inductively coupled plasma–optical emission spectrometry) for the determination of the bromine and antimony content of samples, *Microchemical Journal*. 99 (2011) 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.03.009>.
- [118] E. MarguÍ, M. Sagué, I. Queralt, M. Hidalgo, 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*. 786 (2013) 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.05.006>.
- [119] Bernhard Welz, Michael Sperling, *Atomic Absorption Spectrometry*, 3rd ed., Wiley-VCH, Alemanha, 1999.
- [120] H. Matusiewicz, R.E. Sturgeon, Atomic spectrometric detection of hydride forming elements following in situ trapping within a graphite furnace, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 51 (1996) 377–397. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(95\)01419-5](https://doi.org/10.1016/0584-8547(95)01419-5).
- [121] W. Holak, Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry, *Anal. Chem.* 41 (1969) 1712–1713.

- [122] K. Tsujii, K. Kuga, The determination of arsenic by non-dispersive atomic fluorescence spectrometry with a gas sampling technique, *Analytica Chimica Acta*. 72 (1974) 85–90. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)82951-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)82951-2).
- [123] K.C. Thompson, The atomic-fluorescence determination of antimony, arsenic, selenium and tellurium by using the hydride generation technique, *Analyst*. 100 (1975) 307. <https://doi.org/10.1039/an9750000307>.
- [124] I. Takase, H.B. Pereira, A.S. Luna, P. Grinberg, R.C. de Campos, A geração química de vapor em espectrometria atômica, *Química Nova*. 25 (2002) 1132–1144. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000700014>.
- [125] D.J. Butcher, Review: Recent Advances in Optical Analytical Atomic Spectrometry, *Applied Spectroscopy Reviews*. 48 (2013) 261–328. <https://doi.org/10.1080/05704928.2012.717570>.
- [126] H. Matusiewicz, M. Krawczyk, Determination of total antimony and inorganic antimony species by hydride generation in situ trapping flame atomic absorption spectrometry: a new way to (ultra)trace speciation analysis, *J. Anal. At. Spectrom.* 23 (2008) 43–53. <https://doi.org/10.1039/B710460J>.
- [127] P. Cava-Montesinos, A. de la Guardia, C. Teutsch, M. Luisa Cervera, M. de la Guardia, Non-chromatographic speciation analysis of arsenic and antimony in milk hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Analytica Chimica Acta*. 493 (2003) 195–203. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(03\)00876-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(03)00876-6).
- [128] A. Risnes, W. Lund, Comparison of systems for eliminating interferences in the determination of arsenic and antimony by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 11 (1996) 943. <https://doi.org/10.1039/ja9961100943>.
- [129] A. D’Ulivo, Mechanism of generation of volatile species by aqueous boranes: Towards the clarification of most controversial aspects, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 65 (2010) 360–375. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2010.04.010>.
- [130] A. D’Ulivo, J. Dědina, Z. Mester, R.E. Sturgeon, Q. Wang, B. Welz, Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC Technical Report), *ResearchGate*. 83 (2011) 1283–1340. <https://doi.org/10.1351/PAC-REP-09-10-03>.
- [131] Y.-W. Chen, N. Belzile, 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*. 671 (2010) 9–26. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.05.011>.

- [132] J.L. Gómez-Ariza, D. Sánchez-Rodas, R. Beltrán, I. Giráldez, Arsenic Speciation in Biological Samples Using the Couplings HPLC-UV-HG-AAS and HPLC-UV-HG-AFS, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 74 (1999) 203–213. <https://doi.org/10.1080/03067319908031426>.
- [133] J.-F. Heilier, J.-P. Buchet, V. Haufroid, D. Lison, Comparison of atomic absorption and fluorescence spectroscopic methods for the routine determination of urinary arsenic, *Int Arch Occup Environ Health*. 78 (2005) 51–59. <https://doi.org/10.1007/s00420-004-0562-x>.
- [134] D.J. Butcher, Atomic fluorescence spectrometry: A review of advances in instrumentation and novel applications, *Applied Spectroscopy Reviews*. 51 (2016) 397–416. <https://doi.org/10.1080/05704928.2016.1141099>.
- [135] A. D'ulivo, L. Lampugnani, G. Pellegrini, R. Zamboni, Determination of antimony by continuous hydride generation coupled with non-dispersive atomic fluorescence detection, *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995) 969. <https://doi.org/10.1039/ja9951000969>.
- [136] H. Wu, Y. Jin, Y. Tian, X. Tao, S. Bi, Determination of antimony(III) and antimony(V) in natural waters at ultratrace levels by flow injection on-line sorption preconcentration coupled with hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Atomic Spectroscopy*. 28 (2007) 220–226.
- [137] X. Wang, X. Li, X. Zhang, S. Qian, Speciation analysis of antimony in water samples via combined nano-sized TiO₂ colloid Preconcentration and AFS analysis, *J. Anal. At. Spectrom.* 29 (2014) 1944–1948. <https://doi.org/10.1039/C4JA00147H>.
- [138] L.A. Portugal, L. Ferrer, A.M. Serra, D. Gonçalves da Silva, S.L.C. Ferreira, V. Cerdà, A non-chromatographic automated system for antimony speciation in natural water exploiting multisyringe flow injection analysis coupled with online hydride generation – atomic fluorescence spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 30 (2015) 1133–1141. <https://doi.org/10.1039/C4JA00476K>.
- [139] G. dos Santos, L. Silva, A. Santos Júnior, E. da Silva, W. dos Santos, Analytical Strategies for Determination and Environmental Impact Assessment of Inorganic Antimony Species in Natural Waters Using Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry (HG AFS), *J. Braz. Chem. Soc.* (2017). <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170129>.
- [140] N. Zhang, N. Fu, Z. Fang, Y. Feng, L. Ke, Simultaneous multi-channel hydride generation atomic fluorescence spectrometry determination of arsenic, bismuth, tellurium and selenium in tea leaves, *Food Chemistry*. 124 (2011) 1185–1188. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.033>.

- [141] W. Zhang, T. Duan, Simultaneous Determination of Mercury and Antimony in Lead-Base Alloys by Hydride Generation-Double Channel Atomic Fluorescence Spectrometry with Solid-phase Extraction Using Amberlite XAD-16 Resin Micro-column, *Asian J. Chem.* 26 (2014) 219–223.
<https://doi.org/10.14233/ajchem.2014.15704>.
- [142] P. Peralta-Zamora, J. Lopes de Moraes, N. Nagata, Por que otimização multivariada?, *Eng. sanit. ambient.* 10 (2005) 106–110.
<https://doi.org/10.1590/S1413-41522005000200003>.
- [143] M.P. Callao, Multivariate experimental design in environmental analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 62 (2014) 86–92.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.07.009>.
- [144] S.L.C. Ferreira, *Introdução às técnicas de planejamento de experimentos*, 1^a ed, Vento Leste, Brazil, 2015.
- [145] M.A. Bezerra, R.E. Santelli, E.P. Oliveira, L.S. Villar, L.A. Escaleira, Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry, *Talanta.* 76 (2008) 965–977. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>.
- [146] L. Vera Candioti, M.M. De Zan, M.S. Cámara, H.C. Goicoechea, Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development, *Talanta.* 124 (2014) 123–138.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.034>.
- [147] C.G. Novaes, S.L.C. Ferreira, J.H.S. Neto, F.A. de Santana, L.A. Portugal, H.C. Goicoechea, A multiple response function for optimization of analytical strategies involving multi-elemental determination, *Current Analytical Chemistry.* 12 (2016) 94–101.
- [148] M.A. Bezerra, Q.O. dos Santos, A.G. Santos, C.G. Novaes, S.L.C. Ferreira, V.S. de Souza, Simplex optimization: A tutorial approach and recent applications in analytical chemistry, *Microchemical Journal.* 124 (2016) 45–54.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.07.023>.
- [149] V. Cerdà, L. Ferrer, L.A. Portugal, C.T. de Souza, S.L.C. Ferreira, Multisyringe flow injection analysis in spectroanalytical techniques – A review, *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 98 (2018) 1–18.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.10.016>.
- [150] D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, L.M.C. Buydens, S. de Jong, P.J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Vol. Part A* Elsevier Part A., 3^a, 2003.

- [151] G.E.P. Box, D.W. Behnken, Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables, *Technometrics*. 2 (1960) 455–475.
<https://doi.org/10.1080/00401706.1960.10489912>.
- [152] S.L.C. Ferreira, R.E. Bruns, H.S. Ferreira, G.D. Matos, J.M. David, G.C. Brandão, E.G.P. da Silva, L.A. Portugal, P.S. dos Reis, A.S. Souza, W.N.L. dos Santos, Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods, *Analytica Chimica Acta*. 597 (2007) 179–186.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.011>.
- [153] M. Trojanowicz, ed., *Advances in Flow Analysis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2008.
<https://doi.org/10.1002/9783527623259>.
- [154] I. Facchin, *Extração líquido-líquido em sistema de fluxo monossegmentado*, Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 1996.
- [155] E.A.G. Zagatto, J.F. van Staden, N. Maniasso, R.I. Stefan, G.D. Marshall, Information essential for characterizing a flow-based analytical system (IUPAC Technical Report), *Pure and Applied Chemistry*. 74 (2002) 585–592.
<https://doi.org/10.1351/pac200274040585>.
- [156] S.D. Kolev, I.D. McKelvie, eds., *Advances in Flow Injection Analysis and Related Techniques*, Volume 54, 1 edition, Elsevier Science, Amsterdam ; Boston, 2008.
- [157] V. Cerdà, A. Cerdà, *An introduction to flow analysis*, 2009.
- [158] J. Růžicka, E.H. Hansen, Flow injection analyses, *Analytica Chimica Acta*. 78 (1975) 145–157. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)84761-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)84761-9).
- [159] Celio. Pasquini, W.A. De Oliveira, Monosegmented system for continuous flow analysis. Spectrophotometric determination of chromium(VI), ammonia and phosphorus, *Analytical Chemistry*. 57 (1985) 2575–2579.
<https://doi.org/10.1021/ac00290a033>.
- [160] J. Ruzicka, G.D. Marshall, Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays, *Analytica Chimica Acta*. 237 (1990) 329–343. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)83937-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)83937-9).
- [161] B.F. Reis, M.F. Giné, E.A.G. Zagatto, J.L.F.C. Lima, R.A. Lapa, Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests, *Analytica Chimica Acta*. 293 (1994) 129–138. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(94\)00090-5](https://doi.org/10.1016/0003-2670(94)00090-5).

- [162] F. Albertús, A. Cladera, V. Cerdá, B. Horstkotte, A robust multisyringe system for process flow analysis, *The Analyst*. 124 (1999) 1373–1381. <https://doi.org/10.1039/a903496j>.
- [163] R.S. Honorato, M.C.U. Araújo, R.A.C. Lima, E.A.G. Zagatto, R.A.S. Lapa, J.L.F. Costa Lima, A flow-batch titrator exploiting a one-dimensional optimisation algorithm for end point search, *Analytica Chimica Acta*. 396 (1999) 91–97. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00366-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00366-9).
- [164] J. (Jarda) Ruzicka, From continuous flow analysis to programmable Flow Injection techniques. A history and tutorial of emerging methodologies, *Talanta*. 158 (2016) 299–305. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.05.070>.
- [165] J. Ma, D. Yuan, K. Lin, S. Feng, T. Zhou, Q. Li, Applications of flow techniques in seawater analysis: A review, *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. 10 (2016) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2016.02.003>.
- [166] J. (Koos) F. van Staden, Application of phthalocyanines in flow- and sequential-injection analysis and microfluidics systems: A review, *Talanta*. 139 (2015) 75–88. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.02.026>.
- [167] R.B.R. Mesquita, A.O.S.S. Rangel, A review on sequential injection methods for water analysis, *Analytica Chimica Acta*. 648 (2009) 7–22. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.06.030>.
- [168] M. Trojanowicz, K. Kołacińska, Recent advances in flow injection analysis, *Analyst*. 141 (2016) 2085–2139. <https://doi.org/10.1039/C5AN02522B>.
- [169] F.A.S. Cunha, A.S.G. Pereira, J.P.A. Fernandes, W.S. Lyra, M.C.U. Araújo, L.F. Almeida, Automated Single-Phase Liquid-Liquid Extraction for Determination of Cr(VI) Using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry without Wet Digestion of Samples, *Food Analytical Methods*. 10 (2017) 921–930. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0651-y>.
- [170] M. B. Lima, M. Insausti, C.E. Domini, M.F. Pistonesi, M.C. Ugulino de Araújo, B.S. Fernández Band, Automatized flow-batch method for fluorescent determination of free glycerol in biodiesel samples using on-line extraction, *Talanta*. 89 (2012) 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.10.055>.
- [171] M.A. Domínguez, M. Grünhut, M.F. Pistonesi, M.S. Di Nezio, M.E. Centurión, Automatic Flow-Batch System for Cold Vapor Atomic Absorption Spectroscopy Determination of Mercury in Honey from Argentina Using Online Sample Treatment, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60 (2012) 4812–4817. <https://doi.org/10.1021/jf300637b>.
- [172] R.A.C. Lima, S.R.B. Santos, R.S. Costa, G.P.S. Marccone, R.S. Honorato, V.B. Nascimento, M.C.U. Araujo, Hardness screening of water using a flow-batch

photometric system, *Analytica Chimica Acta*. 518 (2004) 25–30.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.05.013>.

- [173] S.C.B. Oliveira, E.C.S. Coelho, T.M.G. Selva, F.P. Santos, M.C.U. Araújo, F.C. Abreu, V.B. Nascimento, A coulometric flow cell for in-line generation of reagent, titrant or standard solutions, *Microchemical Journal*. 82 (2006) 220–225. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2006.01.009>.
- [174] R.A.C. Lima, L.F. Almeida, W.S. Lyra, L.A. Siqueira, E.N. Gaião, S.S.L. Paiva Junior, R.L.F.C. Lima, Digital movie-based on automatic titrations, *Talanta*. 147 (2016) 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.053>.
- [175] J.E. da Silva, F.A. da Silva, M.F. Pimentel, R.S. Honorato, V.L. da Silva, M. da C.B.S.M. Montenegro, A.N. Araújo, A flow-batch internal standard procedure for iron determination in hydrated ethanol fuel by flame atomic absorption spectrometry, *Talanta*. 70 (2006) 522–526.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.12.057>.
- [176] M. Grünhut, V.L. Martins, M.E. Centurión, M.C. Ugulino Araújo, B.S.F. Band, Flow-Batch Analyzer for the Chemiluminescence Determination of Catecholamines in Pharmaceutical Preparations, *Analytical Letters*. 44 (2011) 67–81. <https://doi.org/10.1080/00032719.2010.500765>.
- [177] R.A.N. Andrade, S.I.E. Andrade, V.L. Martins, P.N.T. Moreira, D.J.E. Costa, W.S. Lyra, M.C.U. Araújo, A flow-batch luminometer, *Microchemical Journal*. 108 (2013) 151–155. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.10.009>.
- [178] M.B. Lima, S.I.E. Andrade, D.P. Harding, M.F. Pistonesi, B.S.F. Band, M.C.U. Araújo, Turbidimetric and photometric determination of total tannins in tea using a micro-flow-batch analyzer, *Talanta*. 88 (2012) 717–723.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.11.076>.
- [179] C.C. Acebal, M. Insausti, M.F. Pistonesi, A.G. Lista, B.S.F. Band, A new automated approach to determine monosodium glutamate in dehydrated broths by using the flow-batch methodology, *Talanta*. 81 (2010) 116–119.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.11.045>.
- [180] E.A. Lima, M.B. Lima, S.I.E. Andrade, I.S. Barreto, M.C.U. Araújo, R.A.C. Lima, L.F. Almeida, A Micro-Flow-Batch Analyzer Using an In-line Cadmium Sponge Microcolumn for the Photometric Determination of Nitrate and Nitrite in Dairy Samples, *Food Anal. Methods*. 7 (2014) 1925–1931.
<https://doi.org/10.1007/s12161-014-9842-6>.
- [181] S.I.E. Andrade, M.B. Lima, I.S. Barreto, W.S. Lyra, L.F. Almeida, M.C.U. Araújo, E.C. Silva, A digital image-based flow-batch analyzer for determining Al(III) and Cr(VI) in water, *Microchemical Journal*. 109 (2013) 106–111.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.03.029>.

- [182] M.B. Lima, I.S. Barreto, S.I.E. Andrade, L.F. Almeida, M.C.U. Araújo, Using Webcam, CdTe Quantum Dots and Flow-Batch System for Automatic Spectrofluorimetric Determination of *N* -Acetyl-L-cysteine in Pharmaceutical Formulations, *Journal of the Brazilian Chemical Society*. (2014). <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140152>.
- [183] I.S. Barreto, S.I.E. Andrade, F.A.S. Cunha, M.B. Lima, M.C.U. Araujo, L.F. Almeida, A robotic magnetic nanoparticle solid phase extraction system coupled to flow-batch analyzer and GFAAS for determination of trace cadmium in edible oils without external pretreatment, *Talanta*. 178 (2018) 384–391. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.09.063>.
- [184] N.V. Semenova, L.O. Leal, R. Forteza, V. Cerdà, Antimony determination and speciation by multisyringe flow injection analysis with hydride generation-atomic fluorescence detection, *Analytica Chimica Acta*. 530 (2005) 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.08.046>.
- [185] F.A. de Santana, L.A. Portugal, A.M. Serra, L. Ferrer, V. Cerdà, S.L.C. Ferreira, Development of a MSFIA system for sequential determination of antimony, arsenic and selenium using hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Talanta*. 156–157 (2016) 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.04.063>.
- [186] P.H. Pacheco, R.A. Gil, L.D. Martinez, G. Polla, P. Smichowski, A fully automated system for inorganic antimony preconcentration and speciation in urine, *Analytica Chimica Acta*. 603 (2007) 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.09.034>.
- [187] Y. Petit de Peña, O. Vielma, J.L. Burguera, M. Burguera, C. Rondón, P. Carrero, On-line determination of antimony(III) and antimony(V) in liver tissue and whole blood by flow injection - hydride generation - atomic absorption spectrometry, *Talanta*. 55 (2001) 743–754.
- [188] P. Cava-Montesinos, Determination of arsenic and antimony in milk by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Talanta*. 60 (2003) 787–799. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00126-7](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00126-7).
- [189] J.Y. Cabon, C. Louis Madec, Determination of major antimony species in seawater by continuous flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*. 504 (2004) 209–215. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.10.048>.
- [190] Y. Ye, J. Sang, H. Ma, G. Tao, Determination of antimony in environment samples by gas phase chemiluminescence detection following flow injection hydride generation and cryotrapping, *Talanta*. 81 (2010) 1502–1507. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.02.060>.

- [191] R.M. Frizzarin, L.A. Portugal, J.M. Estela, F.R.P. Rocha, V. Cerdà, On-line lab-in-syringe cloud point extraction for the spectrophotometric determination of antimony, *Talanta*. 148 (2016) 694–699. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.04.076>.
- [192] M.M. Silva Junior, L.A. Portugal, A.M. Serra, L. Ferrer, V. Cerdà, S.L.C. Ferreira, On line automated system for the determination of Sb(V), Sb(III), thrimethyl antimony(v) and total antimony in soil employing multisyringe flow injection analysis coupled to HG-AFS, *Talanta*. 165 (2017) 502–507. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.022>.
- [193] M. Thompson, S. Ellison, R. Wood, Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report), *Pure and Applied Chemistry - PURE APPL CHEM*. 74 (2002) 835–855. <https://doi.org/10.1351/pac200274050835>.
- [194] F.J. Hooler, D.A. Skoog, S.R. Crouch, *Principios De Analise Instrumental* 6Ed., Edição: 6ª, Bookman, Porto Alegre, 2009.
- [195] B.B. Neto, *Como Fazer Experimentos. Aplicações na Ciência e na Indústria*, Edição: 4ª, Bookman, Porto Alegre, 2010.
- [196] N.R. Draper, S. Harry, *Applied Regression Analysis*, 3rd ed., Wiley, New York, 1998.
- [197] IUPAC, *Pure Applied Chemistry*, 1975.
- [198] L. Antenor Rizzon, J. Meneguzzo, *Suco de uva*, 1ª edição, Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF, 2007.
- [199] M. Segura, Y. Madrid, C. Cámara, Evaluation of atomic fluorescence and atomic absorption spectrometric techniques for the determination of arsenic in wine and beer by direct hydride generation sample introduction, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 131–135. <https://doi.org/10.1039/A805391J>.
- [200] C. Rondón, J.-L. Burguera, M. Burguera, M. R Brunetto, M. Gallignani, Y. Petit de Peña, Selective determination of antimony(III) and antimony(V) in liver tissue by microwave-assisted mineralization and hydride generation atomic absorption spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 353 (1995) 133–6. <https://doi.org/10.1007/s0021653530133>.

ANEXO

Produção científica

Ao longo dos anos de pesquisa acadêmica concernentes aos trabalhos de formação no curso de doutorado em química analítica, foram apresentados trabalhos em congressos relativos ao tema da tese, assim como um artigo científico, os quais são elencados a seguir:



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho

UM SISTEMA FLOW-BATCH PARA GERAÇÃO AUTOMÁTICA DE VAPOR QUÍMICO E DETECÇÃO DE CÁDMIO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA POR CHAMA

Francisco Antonio Silva Cunha, Eduardo Antonio Lima, Danilo Tadeu Silva Ferreira, Mário Marques Silva Junior, Amália Geiza Gama Pessoa, Luciano Farias Almeida, Mário César Ugulino Araújo, Sérgio Luiz Costa Ferreira

foi apresentado na forma de pôster no 18º Encontro Nacional de Química Analítica, realizado no período de 18 a 21 de setembro de 2016 em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.


Daniel L. G. Borges
Coordenador Geral

Certificado



**19º Encontro Nacional de Química Analítica e
7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica**

Inovação para a Química Analítica Sustentável

16 a 19 de Setembro de 2018
Centro de Eventos e Convenções DiRoma,
Caldas Novas - GO

Certificamos que

o trabalho intitulado: **UM SISTEMA FLOW-BATCH PARA A ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO POR ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA ATÔMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETOS**, de autoria de Francisco Antonio da Silva Cunha, Eduardo Antônio de Lima, Mário Marques da Silva Junior, Wellington da Silva Lyra, Luciano Farias de Almeida, Josué Carinhonha Caldas Santos, Mário César Ugulino de Araújo, Sérgio Luiz Costa Ferreira, foi apresentado na modalidade 4. Instrumentação Analítica, durante o 19º ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica e o 7º CIAQA - Congresso Iberoamericano de Química Analítica, realizado de 16 a 19 de setembro de 2018 no Centro de Eventos e Convenções do DiRoma em Caldas Novas/GO.

Caldas Novas, 19 de setembro de 2018.

Wendell Carlos
Wendell Carlos Tomazelli Coltro
Presidente do 19º ENQA e 7º CIAQA

Patrocínio Ouro:  **Metrohm** Brasil

Patrocínio Prata:  **Waters**  **Agilent**  **ThermoFisher**

Patrocínio Bronze:  **Mérieux**  **analityca**  **DLtech**  **superlab**  **Anton Paar**  **Allchem**  **NEON**  **Bioscience**

Patrocinador Sustentável:  **EcoActive**

Cota Celebrador:  **Petrobras**  **Vale**  **INFALLA**

Apoio:  **DATHEM**  **INCT**  **INCTA**  **FAPEG**  **CAPES**  **CNPq**

Realização:  **SBQ**  **UFG**  **UnB**

Organização:  **win21**

X Workshop de Quimiometria



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado

Um sistema Flow-Batch para a especiação de antimônio por espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos foi apresentado na forma oral durante as sessões coordenadas do **X WORKSHOP DE QUIMIOMETRIA**.

Autores: Mário Marques da Silva Junior, Eduardo Antônio de Lima, Francisco Antonio da Silva Cunha, Wellington S. Lyra, Luciano Farias de Almeida, Josué Carinhonha Caldas Santos, Mário César Ugulino de Araújo, Sérgio Luis Costa Ferreira

Salvador, 25 de Abril de 2019

Eliane de Oliveira Silva
Eliane de Oliveira Silva
Secretária da SBQ regional Bahia

Sérgio Luis Costa Ferreira
Sérgio Luis Costa Ferreira
Coordenador do Evento



Talanta
Available online 16 April 2019
In Press, Accepted Manuscript ?



A fast and sensitive flow-batch method with hydride generating and atomic fluorescence spectrometric detection for automated inorganic antimony speciation in waters

Eduardo A. Lima ^a, Francisco A.S. Cunha ^b, Mario M.S. Junior ^c, Wellington S. Lyra ^a, Josué C.C. Santos ^b, Sergio L.C. Ferreira ^c, Mario C.U. de Araujo ^a, Luciano F. Almeida ^a ✉

^a Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Química, P.O. Box 5093, Zip Code 58051–970, João Pessoa, PB, Brazil

^b Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Campus A.C. Simões, Tabuleiro dos Martins, 57072–900, Maceió, AL, Brazil

^c Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Campus Ondina, 40170–115, Salvador, BA, Brazil

Received 21 February 2019, Revised 12 April 2019, Accepted 13 April 2019, Available online 16 April 2019.