

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

**LUÍS FELIPE COSTA GOUVÊA**

**ESPECIAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS EMPREGANDO A  
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR DE ALTA RESOLUÇÃO  
COM FONTE CONTÍNUA (HR-CS MAS)**

Poços de Caldas/MG

2017

**LUIS FELIPE COSTA GOUVÊA**

**ESPECIAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS EMPREGANDO A  
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR DE ALTA RESOLUÇÃO  
COM FONTE CONTÍNUA (HR-CS MAS)**

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Ciência e Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas – *Campus* Poços de Caldas – MG. Área de concentração: Monitoramento Ambiental.  
Orientador: Prof. Dr. Gian Paulo Giovanni Freschi.

Poços de Caldas/MG

2017

G719e Gouvêa, Luís Felipe Costa.

Especiação de compostos nitrogenados empregando a espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (HR-CS MAS) / Luís Felipe Costa Gouvêa. – Poços de Caldas, 2017.

65 f. –

Orientador: Gian Paulo Giovanni Freschi.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2017.  
Bibliografia.

1. Engenharia sanitária. 2. Nitratos – Especiação química. 3. Monitoramento ambiental. I. Freschi, Gian Paulo Giovanni. II. Título.

CDD: 628

**LUIS FELIPE COSTA GOUVÊA**

**ESPECIAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS EMPREGANDO A  
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR DE ALTA RESOLUÇÃO  
COM FONTE CONTÍNUA (HR-CS MAS)**

A banca examinadora abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciência e Engenharia Ambiental, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Alfenas.

Área de Concentração: Ciência e Engenharia Ambiental.

Aprovada em: 31 de janeiro de 2017.

Prof. Dr. Gian Paulo Giovanni Freschi  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Pedro Orival Luccas  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Assinatura: \_\_\_\_\_

Profª Drª Márcia Andréia M. S. Da Veiga  
Instituição: USP – Ribeirão Preto

Assinatura: \_\_\_\_\_

*Dedico este trabalho a todas as pessoas que me ajudaram a construí-lo, pessoas que amo e sempre estarão presentes em meus pensamentos.*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Luciana e Claudinê, e irmãos, Luís Otávio e Letícia, que sempre estiveram do meu lado nas horas felizes e tristes, me fornecendo suporte e orientação através dos seus atos bondosos e acolhedores.

À Fernanda, minha esposa, que não mediu esforços em me ajudar, de maneira decisiva à conclusão desse trabalho. Gostaria que todas as pessoas que amo tenham a oportunidade de terem ao seu lado alguém como você, pois você é o melhor presente que ganhei na minha vida. Eu te amo.

À minha família: avós, tios, tias, primos e primas. Muito obrigado por formarem dessa família, uma família unida e tão especial.

Ao meus sogros e cunhadas pelo carinho e palavras de sabedoria, tão importantes em momentos difíceis que passei nessa fase.

Ao professor Gian, pela sua orientação e paciência ao longo desses anos, sempre me ajudando, ensinando e me guiando, da melhor forma, para que fosse possível a conclusão desse trabalho. Obrigado por tudo que tem feito por mim!

Ao professor Clodoaldo, um grande mestre, que sempre dedica uma parte do seu tempo para nos agraciar com sua gigantesca sabedoria e conhecimento. Obrigado pela oportunidade de nos deixar aprender com o senhor, professor.

A todos os meus amigos, a família que escolhi ter, por sempre estarem presentes na minha vida. André, Diego, Iago e Marielle, Gustavo e Pedro, Juan e Talitha, Dudu, Joninha e Aninha, Cleyson – Ralph, Edna, Mateus, Adriana, Márcia, Rafael, Cristiane e todos os amigos da PUC Minas – Da Ré, Tardioli, Flávio e todo o pessoal da academia Bien Hoo – ao pessoal do partido e aos amigos do LAFFEQ, o meu grande MUITO OBRIGADO!

Aos professores da UNIFAL-MG de Poços de Caldas pelos ensinamentos nas disciplinas que realizei no mestrado.

À banca, Pedro e Márcia, pela disponibilidade e oportunidade de aperfeiçoar ainda mais o meu trabalho.

À UNIFAL-MG, pela oportunidade da realização da pós-graduação, e à Capes, pela bolsa que foi concedida.

Muito obrigado a todos vocês, por fazerem parte do que sou e por fazerem parte desse trabalho!

“Tudo o que temos que decidir é o que fazer com  
o tempo que nos é dado.”

J. R. R. Tolkien - Gandalf

## RESUMO

O presente trabalho apresenta uma nova técnica de especiação de compostos nitrogenados em amostra ambientais e de alimentos, utilizando a técnica de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (HR-CS MAS). O íon nitrito foi determinado por meio da geração de vapor (CVG) de NO acoplado a HR-CS MAS, na presença de ácido clorídrico e de ácido ascórbico. Fatores como a temperatura da cela de quartzo, vazão do gás de arraste, vazão do sistema CVG e concentração dos ácidos foram otimizados nessa etapa. Métodos de especiação de nitrito e nitrato foram estudados, empregando a fotoredução do nitrato à nitrito - irradiação de luz ultravioleta (UV) - nas amostras contendo nitrato em meio tamponado com cloreto de amônio em pH 7,97, na presença de EDTA. Dessa maneira, a concentração de nitrato, empregando o processo de redução, se soma à concentração de nitrito anterior, sendo especiado por meio da subtração da concentração final da inicial. O *p*-nitrofenol (PNP) foi determinado por meio da quebra da ligação C-N na estrutura, empregando radiação UV na presença de peróxido de hidrogênio em pH 11,8, gerando nitrito, o qual foi determinado por meio da redução à vapor de NO. As condições otimizadas para o método proposto visando as determinações (especiação) por meio da formação de NO foram, (I) Determinação de nitrito: linha de absorção 214,803 nm, temperatura da cela de quartzo de 600 °C, vazão do gás de arraste de 6 L.H<sup>-1</sup>, vazão do sistema CVG 8,0 mL.min<sup>-1</sup>, [HCl] 3,0 mol.L<sup>-1</sup> e [Ác. Ascórbico] 3,5% (m.v<sup>-1</sup>); (II) Determinação de nitrato: [NH<sub>4</sub>Cl] 2,0 mol.L<sup>-1</sup> em pH 7,97, [EDTA] 1,0 mmol.L<sup>-1</sup> e 20 segundos de irradiação UV (254 nm e 15 W). (III) Determinação de PNP: [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] 1,0 mmol.L<sup>-1</sup> em pH 11,8 e 20 segundos em irradiação UV (254 nm e 15 W). Curvas de calibração foram construídas, de maneira a avaliar o comportamento das espécies em cada condição de determinação seletiva, e, posteriormente, o método foi aplicado nas amostras. Foram analisadas tanto a água de conserva quanto o alimento sólido, seco em estufa à 70 °C até massa constante e logo após, triturado em água deionizada ultrapura à 70 °C por 40 minutos. As amostras foram centrifugadas e filtradas em seguida. Testes de adição e recuperação foram realizados nas amostras, para avaliar a eficiência do método e as possíveis fontes de interferência no sistema. Os valores de R<sup>2</sup>, LOD (mg.L<sup>-1</sup>) e LOQ (mg.L<sup>-1</sup>) foram, respectivamente, de 0,9903; 0,047 e 0,16 para o nitrito; de 0,9904; 0,090 e 0,30 para nitrato e de 0,9957; 0,034 e 0,11 para PNP.

**Palavras-chave:** Fotolítica geração de vapor químico acoplado a espectrometria de absorção molecular com fonte contínua (UV/CVG-CS MAS). Especiação química. Nitrito. Nitrato. *p*-nitrofenol.

## ABSTRACT

The present work presents a new technique for the speciation of nitrogenous compounds in environmental and food samples, using the high-resolution continuum-source molecular absorption technique (HR-CS MAS). The nitrite ion was determined by the generation of vapor (CVG) of NO coupled to HR-CS MAS in the presence of hydrochloric acid and ascorbic acid. Factors such as the temperature of the quartz cell, carrier gas flow, CVG system flow and acid concentration were optimized in this step. Nitrite and nitrate speciation methods were studied, using the photoreduction of nitrate to nitrite - irradiation of ultraviolet light (UV) - in the samples containing nitrate in buffered medium with ammonium chloride at pH 7.97, in the presence of EDTA. In this way, the nitrate concentration, using the reduction process, is added to the concentration of the previous nitrite, being speciated by subtraction of the final concentration of the initial one. *p*-nitrophenol (PNP) was determined by breaking the C-N bond in the structure, employing UV radiation in the presence of hydrogen peroxide at pH 11.8, generating nitrite, which was determined by the reduction to NO vapor. The optimized conditions of the proposed method for the determinations (speciation) through NO formation were: (I) nitrite determination: absorption line in 214,803 nm, quartz cell temperature of 600 °C, carrier gas flow of 6 L.H<sup>-1</sup>, CVG system flow of 8.0 mL.min<sup>-1</sup>, [HCl] 3.0 mol.L<sup>-1</sup> and [Ascorbic acid] 3.5% (m.v<sup>-1</sup>); (II) Determination of nitrate: [NH<sub>4</sub>Cl] 2.0 mol.L<sup>-1</sup> at pH 7.97, [EDTA] 1.0 mmol.L<sup>-1</sup> and 20 seconds of UV irradiation (254 nm and 15 W). (III) Determination of PNP: [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] 1.0 mmol.L<sup>-1</sup> at pH 11.8 and 20 seconds in UV irradiation (254 nm and 15 W). Calibration curves were constructed in order to evaluate the behavior of the species in each condition of selective determination, and, later, the method was applied in the samples. Both the conserve water and the solid food, oven dried at 70 °C up to constant mass, were analysed and then crushed in ultra-pure deionized water at 70 °C for 40 minutes. The samples were centrifuged and then filtered. Addition and recovery tests were performed in the samples to evaluate the efficiency of the method and possible sources of interference in the system. The values of R<sup>2</sup>, LOD (mg.L<sup>-1</sup>) and LOQ (mg.L<sup>-1</sup>) were, respectively, 0.9903; 0.047 and 0.16 for nitrite; 0.9904; 0.090 and 0.30 for nitrate and 0.9957; 0.034 and 0.11 for PNP.

**Keywords:** Photolithic chemical vapor generation coupled to molecular absorption spectrometry with continuum-source (UV/CVG-CS MAS). Chemical speciation. Nitrite. Nitrate. *p*-nitrophenol.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Ciclo biogeoquímico do nitrogênio.....10
- Figura 2 -** Correlação entre a porcentagem de fMetHb no sangue e as manifestações clínicas no indivíduo.....11
- Figura 3 -** Híbridos de ressonância do *p*-nitrofenol.....12
- Figura 4 -** Lâmpada de arco curto de xenônio.....15
- Figura 5 -** Representação esquemática do HR-CS AAS. (1) Lâmpada de arco curto de xenônio, (2) espelhos elipsoidais focalizadores, (3) atomizador de chama ou forno de grafite, (4) fenda de entrada, (5) espelhos parabolóides, (6) prima Littrow, (7) fenda intermediária ajustável, (8) rede *echelle* e (9) detector CCD.....16
- Figura 6 -** Fotografias da cela de quartzo (1) envolta do sistema de aquecimento eletrotérmico (2).....20
- Figura 7 -** Fotografia do reator fotoquímico utilizado para a fotólise (câmara fotolítica).....21
- Figura 8 -** Fotografia do sistema UV/CVG para a fotolítica redução/oxidação de compostos nitrogenados visando a geração de moléculas de NO.....21
- Figura 9 -** Fotografia do sistema de geração de vapor químico (HS60A) comercial empregado para a geração de NO.....22
- Figura 10 -** Esquema do sistema de especiação dos íons nitrito/nitrato. (1) Luz ultravioleta. Quando desligada, o sistema determina apenas o íon nitrito. Quando ligada, o sistema determina os íons nitrito e nitrato. (2) Processo de acidificação do íon nitrito original/gerado de íon nitrato. (3) Processo de redução do íon nitrito original/gerado do íon nitrato. As vazões em (a), (b) e (c) foram todas de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>.....24
- Figura 11 -** Fotografia do sistema empregado para a especiação dos íons nitrito/nitrato.....24
- Figura 12 -** Esquema do sistema de determinação de PNP. (1) Luz ultravioleta. (2) Processo de acidificação do íon nitrito liberado no processo de degradação do PNP. (3) Processo de redução do íon nitrito liberado no processo de degradação do PNP. As vazões em (a), (b) e (c) foram de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>.....25

- Figura 13** - Sinais de absorção da molécula de NO, obtidos nos comprimentos de onda de (1) 214.803 nm e (2) 215.360 nm. Medida realizada com uma solução 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>).....30
- Figura 14** - Sinais obtidos com as temperaturas de (1) 600 °C, (2) 650 °C, (3) 700 °C, (4) 750 °C, (5) 800 °C e (6) 900 °C. As medidas foram realizadas com [NO<sub>2</sub><sup>-</sup>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, em 214.803nm, vazão do sistema de 8,0 mL.min<sup>-1</sup> e vazão de argônio em 6 L.H<sup>-1</sup>.....32
- Figura 15** - Sinais obtidos com as vazões de argônio de (1) 6 L.H<sup>-1</sup>, (2) 25 L.H<sup>-1</sup> e (3) 31 L.H<sup>-1</sup>. As medidas foram realizadas com [NO<sub>2</sub><sup>-</sup>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, em 214.803nm, temperatura da cela de quartzo em 600 °C e vazão do sistema CVG de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>.....35
- Figura 16** - Absorbâncias integradas médias obtidas com o aumento da concentração de ácido clorídrico (em mol.L<sup>-1</sup>) no sistema CVG. As medidas foram realizadas com [NO<sub>2</sub><sup>-</sup>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, em 214.803nm, vazão do sistema CVG de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>, temperatura da cela de quartzo em 600 °C e vazão de argônio em 6 L.H<sup>-1</sup>.....36
- Figura 17** - Sinais de absorbância integrada médias obtidos com o aumento da concentração de ácido ascórbico (em % m.v<sup>-1</sup>) no sistema CVG. As medidas foram realizadas com [NO<sub>2</sub><sup>-</sup>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, em 214.803nm, vazão do sistema CVG de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>, temperatura da cela de quartzo em 600 °C e vazão de argônio em 6 L.H<sup>-1</sup>.....37
- Figura 18** - Valores de absorbância integrada obtidos com o aumento do pH no tampão amônio. A concentração de EDTA no meio reacional permaneceu em 1,0 mmol.L<sup>-1</sup> e a [NH<sub>4</sub>Cl] do tampão foi de 2,0 mol.L<sup>-1</sup>. A amostra permaneceu durante 20 segundos sob irradiação UV. As medidas foram realizadas com [NO<sub>3</sub><sup>-</sup>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup> e o sistema otimizado da Tabela 7.....39
- Figura 19** - Valores de absorbância integrada obtidos com o aumento da concentração de EDTA (em mmol.L<sup>-1</sup>). A concentração de [NH<sub>4</sub>Cl] do tampão, em pH 8,0, foi de 2,0 mol.L<sup>-1</sup>. A amostra permaneceu durante 20 segundos sob irradiação UV. As medidas foram realizadas com [NO<sub>3</sub><sup>-</sup>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup> e o sistema otimizado da Tabela 7.....41
- Figura 20** - Valores de absorbância integrada obtidos com o aumento da concentração de cloreto de amônio (em mol.L<sup>-1</sup>) no tampão. A concentração de EDTA foi de 1,0 mmol.L<sup>-1</sup>, em pH 8,0. A amostra permaneceu durante 20 segundos sob

- irradiação UV. As medidas foram realizadas com  $[\text{NO}_3^-] = 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  e o sistema otimizado da Tabela 7.....42
- Figura 21 -** Valores de absorvância integrada obtidos para  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de PNP, com a variação do tempo de exposição do PNP à luz UV, de 15 segundos à 65 segundos. O pH do meio foi mantido próximo a 8,0 - com o auxílio de NaOH  $15,0 \text{ mol.L}^{-1}$  - e a concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi de  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ . Foram aplicados nessa etapa, todos os outros fatores otimizados na análise de nitrito, conforme descritos na tabela 7.....44
- Figura 22 -** Absorvância integrada obtidos para  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$  de PNP com a variação do pH no meio reacional. O tempo de exposição à luz UV nessa etapa foi de 20 segundos. Todos os outros parâmetros anteriores foram mantidos fixos, como a  $[\text{H}_2\text{O}_2]$  e os parâmetros da tabela 7, para a determinação de NO.....45
- Figura 23 -** Valores de absorvância integrada obtidos para  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de PNP com a variação da  $[\text{H}_2\text{O}_2]$  no meio reacional de 0,0 a  $9,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ . O pH do meio foi mantido em 11,8 e o tempo de exposição à luz UV foi de 20 segundos. Todos os parâmetros da tabela 7 foram mantidos fixos.....47
- Figura 24 -** Comportamento do nitrito nos meios reacionais em que se é determinado. Em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}] 2,0 \text{ mol.L}^{-1}$  e  $[\text{EDTA}] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 – com e sem a irradiação UV por 20 segundos – e em  $[\text{H}_2\text{O}_2] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 11,8 – com e sem irradiação UV por 20 segundos.....48
- Figura 25 -** Curva de calibração para o nitrito em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}] 2,0 \text{ mol.L}^{-1}$  e  $[\text{EDTA}] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 e sem a irradiação de luz UV empregando as condições otimizadas (Tabela 7).....49
- Figura 26 -** Curva de calibração para o nitrito em  $[\text{H}_2\text{O}_2] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 11,8 e sem a irradiação de luz UV empregando as condições otimizadas (Tabela 7).....49
- Figura 27 -** Comportamento do nitrato em diferentes meios reacionais. Em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}] 2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ ,  $[\text{EDTA}] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 – com e sem a irradiação UV por 20 segundos – e em  $[\text{H}_2\text{O}_2] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 11,8 – com e sem irradiação UV por 20 segundos.....50
- Figura 28 -** Curva de calibração para nitrato em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}] 2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ ,  $[\text{EDTA}] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 e com a irradiação de luz UV por 20 segundos, empregando as condições otimizadas (Tabela 7).....51
- Figura 29 -** Comportamento do PNP em diferentes meios reacionais. Em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}] 2,0 \text{ mol.L}^{-1}$  e  $[\text{EDTA}] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 – com e sem a

	irradiação UV por 20 segundos – e em [H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] 1,0 mmol.l <sup>-1</sup> em pH 11,8 – com e sem irradiação UV por 20 segundos.....	52
<b>Figura 30 -</b>	Curva de calibração para o PNP em [H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] 1,0 mmol.L <sup>-1</sup> no pH 11,8 e irradiação UV por 20 segundos, empregando as condições otimizadas (Tabela 7).....	52
<b>Figura 31 -</b>	Curva de calibração de nitrito e nitrato em tampão amônio [NH <sub>4</sub> Cl] 2,0 mol.L <sup>-1</sup> e [EDTA] 1,0 mmol.L <sup>-1</sup> em pH 7,97 e com a irradiação de luz UV por 20 segundos.....	57
<b>Figura 32 -</b>	Curva de calibração de nitrito e PNP em [H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] 1,0 mmol.L <sup>-1</sup> em pH 11,8 e com a irradiação de luz UV por 20 segundos.....	58

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 -</b>	Técnicas instrumentais utilizadas na determinação de compostos nitrogenados.....	13
<b>Tabela 2 -</b>	Condições experimentais utilizadas na determinação de nitrito com base no artigo de Brandao <i>et al.</i> <sup>2</sup> .....	29
<b>Tabela 3 -</b>	Absorção média, desvio padrão e desvio padrão relativo obtidos nas duas linhas de absorção utilizadas.....	29
<b>Tabela 4 -</b>	Absorção média, desvio padrão e desvio padrão relativo obtidos na variação de temperatura de cela utilizada. As medidas foram realizadas com $[\text{NO}_2^-] = 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ , em 214.803nm, vazão do sistema de $8,0 \text{ mL.min}^{-1}$ e vazão de argônio em $6 \text{ L.H}^{-1}$ .....	31
<b>Tabela 5 -</b>	Absorção média, desvio padrão e desvio padrão relativo obtidos na variação da vazão da amostra e dos ácidos envolvidos do sistema CVG para a geração de vapor de NO. As medidas foram realizadas com $[\text{NO}_2^-] = 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ , em 214.803nm, temperatura da cela de quartzo de $600^\circ\text{C}$ e vazão de argônio em $6 \text{ L.H}^{-1}$ .....	33
<b>Tabela 6 -</b>	Absorção média, desvio padrão e desvio padrão relativo obtidos na variação da vazão de argônio. As medidas foram realizadas com $[\text{NO}_2^-] = 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ , em 214.803nm, temperatura da cela de quartzo em $600^\circ\text{C}$ e vazão do sistema CVG de $8,0 \text{ mL.min}^{-1}$ .....	34
<b>Tabela 7 -</b>	Variáveis otimizadas para a determinação de nitrito através do vapor de NO..	38
<b>Tabela 8 -</b>	Parâmetros de desempenho das diferentes condições aplicadas para a determinação dos compostos nitrogenados abaixo citados.....	53
<b>Tabela 9 -</b>	Valores de absorbância integrada, desvio padrão e desvio padrão relativo encontrados para os diferentes analitos em tampão amônio $[\text{NH}_4\text{Cl}] 2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ , $[\text{EDTA}] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ em pH 7,97 sem a irradiação UV. Para o estudo $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ dos analitos foram empregados.....	54
<b>Tabela 10 -</b>	Valores de absorbância integrada, desvio padrão e desvio padrão relativo encontrados para os diferentes analitos no meio de tampão amônio $[\text{NH}_4\text{Cl}] 2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ e $[\text{EDTA}] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ em pH 7,97 com a irradiação UV por 20 segundos. Para o estudo $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ dos analitos foram empregados.....	54
<b>Tabela 11 -</b>	Valores de absorbância integrada, desvio padrão e desvio padrão relativo encontrados para os diferentes analitos no meio de $[\text{H}_2\text{O}_2] 1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ em pH	

	11,8 e sem a irradiação de luz UV. Para o estudo 0,5 mg.L <sup>-1</sup> dos analitos foram empregados.....	55
<b>Tabela 12 -</b>	Valores de absorbância integrada, desvio padrão e desvio padrão relativo encontrados para os diferentes analitos no meio de [H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] 1,0 mmol.L <sup>-1</sup> em pH 11,8 e com a irradiação de luz UV por 20 segundos.....	56
<b>Tabela 13 -</b>	Resumo das condições mais favoráveis para a determinação de cada analito (especificação química).....	56
<b>Tabela 14 -</b>	Parâmetros de desempenho das diferentes condições aplicadas para a determinação dos compostos nitrogenados abaixo citados empregando o sistema proposto.....	58
<b>Tabela 15 -</b>	Concentração em mg.L <sup>-1</sup> encontradas nos testes de adição e recuperação de 0,5 mg.L <sup>-1</sup> de cada analito nos alimentos enlatados sólidos após a extração sólido-líquido.....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a	-Coeficiente angular
AAS	-Espectrometria de absorção atômica
b	-Coeficiente linear
BRN	-Bactérias redutoras de nitrato
CCD	-Dispositivo de carga acoplada
CE	-Eletroforese capilar
CONAMA	-Conselho Nacional do Meio Ambiente
CVG	-Geração de vapor químico
CZE	-Eletroforese capilar de zona
C-N	-Ligação carbono - nitrogênio
EDTA	-Ácido etilenodiaminotetracético
FAAS	-Espectrometria de absorção atômica em chama
FIA	-Análise de injeção em fluxo
fMetHb	-Metahemoglobina
GF	-Forno de grafite
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-Peróxido de hidrogênio
HCl	-Ácido clorídrico
HG	-Geração de hidretos
HONOO	-Ácido peroxinitroso
HPLC	-Cromatografia líquida de alta eficiência
HR-CS AAS	-Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua
HR-CS MAS	-Espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua
ICP MS	-Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado
ICP OES	-Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado
LCO	-Lâmpada de cátodo oco
LOD	-Limite de detecção
LOQ	-Limite de quantificação
LS AAS	-Espectrometria de absorção atômica com fonte de linhas

L.H <sup>-1</sup>	-Litros por hora
MAS	-Espectrometria de absorção molecular
MetHba	-Metahemoglobinemia
mg.L <sup>-1</sup>	-Miligramas por litro
mm	-Milímetros
m.v <sup>-1</sup>	-Massa por volume
N <sup>2</sup>	-Gás nitrogênio
nm	-Nanômetro
NaNO <sub>3</sub>	-Nitrato de sódio
NaNO <sub>2</sub>	-Nitrito de sódio
NaOH	-Hidróxido de sódio
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-Amônio
NH <sub>4</sub> Cl	-Cloreto de amônio
NO	-Monóxido de nitrogênio
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	-Nitrito
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-Nitrato
ONOO <sup>-</sup>	-Peroxinitrito
pH	-Potencial hidrogeniônico
PNP	- <i>p</i> -nitrofenol
R <sup>2</sup>	-Coeficiente de correlação
UNIFAL-MG	-Universidade Federal de Alfenas – Minas Gerais
UV	-Ultravioleta
UV/Vis	-Ultravioleta/visível
UV/CVG-CS MAS	-Fotolítica geração de vapor químico acoplada à espectrometria de absorção molecular com fonte contínua
W	-Watts
°C	-Graus celsius
%	-Porcentagem
μm	-Micrômetro
λ	-Comprimento de onda

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>9</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1</b>	<b>O Nitrogênio e suas espécies químicas</b> .....	<b>10</b>
<b>3.2</b>	<b>Determinação de compostos nitrogenados empregando técnicas instrumentais</b> .....	<b>13</b>
<b>3.3</b>	<b>Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS)</b> .....	<b>14</b>
<b>3.4</b>	<b>Espectrometria de absorção molecular com geração de vapor químico (CVG-CS MAS)</b> .....	<b>17</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>19</b>
<b>4.1</b>	<b>Soluções e reagentes</b> .....	<b>19</b>
<b>4.2</b>	<b>Instrumentação</b> .....	<b>19</b>
<b>4.3</b>	<b>Otimização do sistema UV/CVG-CS MAS para a determinação de diferentes compostos de nitrogênio</b> .....	<b>22</b>
<i>4.3.1</i>	<i>Determinação de nitrito</i> .....	<i>22</i>
<i>4.3.2</i>	<i>Determinação de nitrato</i> .....	<i>23</i>
<i>4.3.3</i>	<i>Determinação de p-nitrofenol (PNP)</i> .....	<i>25</i>
<b>4.4</b>	<b>Preparo de amostras</b> .....	<b>26</b>
<b>4.5</b>	<b>Especiação de compostos nitrogenados nas amostras</b> .....	<b>26</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
<b>5.1</b>	<b>Otimização do sistema UV/CVG-CS MAS para determinação de nitrito</b> .....	<b>28</b>
<i>5.1.1</i>	<i>Linha de absorção</i> .....	<i>28</i>
<i>5.1.2</i>	<i>Temperatura da cela de quartzo</i> .....	<i>30</i>
<i>5.1.3</i>	<i>Vazões dos reagentes do sistema UV/CVG-CS MAS</i> .....	<i>33</i>
<i>5.1.4</i>	<i>Vazão de argônio</i> .....	<i>34</i>
<i>5.1.5</i>	<i>Concentração do ácido clorídrico</i> .....	<i>35</i>
<i>5.1.6</i>	<i>Concentração do ácido ascórbico</i> .....	<i>36</i>
<b>5.2</b>	<b>Otimização do sistema UV/CVG-CS MAS para determinação de nitrato</b> .....	<b>38</b>
<i>5.2.1</i>	<i>pH do meio amoniacal (Fotorredução)</i> .....	<i>38</i>
<i>5.2.2</i>	<i>Variação da concentração de EDTA</i> .....	<i>40</i>
<i>5.2.3</i>	<i>Variação da concentração de cloreto de amônio (Tampão)</i> .....	<i>41</i>
<b>5.3</b>	<b>Otimização do sistema UV/CVG-CS MAS para determinação de PNP</b> .....	<b>43</b>
<i>5.3.1</i>	<i>Variação do tempo de exposição à luz UV</i> .....	<i>43</i>
<i>5.3.2</i>	<i>Variação do pH no sistema</i> .....	<i>45</i>
<i>5.3.3</i>	<i>Variação da concentração de peróxido de hidrogênio</i> .....	<i>46</i>

<b>5.4</b>	<b>Determinação dos compostos de nitrogênio isolados empregando o sistema UV/CVG-CS MAS</b>	<b>47</b>
5.4.1	<i>Determinação de nitrito</i>	48
5.4.2	<i>Determinação de nitrato</i>	50
5.4.3	<i>Determinação de p-nitrofenol (PNP)</i>	51
<b>5.5</b>	<b>Especiação de compostos de nitrogênio empregando o sistema UV/CVG-CS MAS</b>	<b>53</b>
<b>5.6</b>	<b>Especiação de nitrito, nitrato e PNP nas amostras</b>	<b>57</b>
<b>5.7</b>	<b>Testes de adição e recuperação</b>	<b>59</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>61</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>62</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um dos elementos mais comumente encontrados na natureza, pois, além de representar a maior parcela dos constituintes do ar atmosférico em sua forma gasosa ( $N_2$ ), é capaz de formar compostos orgânicos, como aminas e amidas e inorgânicos, como o nitrato e o nitrito, os quais podem se ligar a moléculas orgânicas <sup>1</sup>.

Dependendo da forma química e da concentração em que se encontram, esses compostos, principalmente o nitrato e nitrito, são indicadores de poluição ambiental. A presença de tais compostos em ambientes aquáticos, deve-se, principalmente, ao despejo irregular de indústrias agrícolas e alimentícias, uma vez que estão presentes em fertilizantes e também em alimentos, na forma de conservantes, evitando a deterioração do produto por ação bacteriana <sup>1-3</sup>.

Sais de nitrito e nitrato estão amplamente presentes em uma grande variedade de alimentos, principalmente alimentos enlatados, carnes em conserva e molhos prontos, tipo *barbecue* <sup>4-6</sup>. O nitrito é um composto com elevada toxicidade, podendo gerar substâncias carcinogênicas ao ser ingerido. Quando presente no sistema circulatório, pode se ligar à hemoglobina e formar a metahemoglobina, que não transporta oxigênio, causando falência respiratória celular e hipóxia nos tecidos <sup>3, 5, 7</sup>. Por outro lado, o nitrato não possui efeito tóxico como o nitrito, mas, em contato com colônias de bactérias presentes na boca, chamadas bactérias redutoras de nitrato (BRN), é parcialmente reduzido a nitrito, apresentando assim, efeitos toxicológicos após sua redução <sup>8</sup>. Além disso, o nitrato causa danos ambientais como a eutrofização de lagos e rios, que pode causar a extinção da vida presente em ambientes aquáticos <sup>3</sup>.

Outra classe de compostos nitrogenados são os orgânicos nitrogenados, dentre os quais podemos destacar o *p*-nitrofenol (PNP) e seus derivados, presente em corantes, pesticidas, herbicidas, entre outros. Todas essas moléculas são consideradas poluentes ambientais por apresentarem efeitos carcinogênicos e irritantes (quando em contato com a pele), além de possuírem uma baixa degradabilidade <sup>9, 10</sup>.

Alguns fatores, como a alta toxicidade desses compostos nitrogenados, o alto teor encontrado em alimentos e o descarte inadequado podem acarretar danos ao meio ambiente, podendo causar inúmeros prejuízos à biota local.

Muitos métodos, encontrados na literatura, para a determinação de compostos nitrogenados utilizam a espectrofotometria molecular como técnica de detecção. Alguns

compostos formados para a determinação colorimétrica (agentes cromóforos) empregando a espectrofotometria, os chamados azo-compostos, apresentam um potencial efeito carcinogênico, além de serem poluidores ambientais <sup>11, 12</sup>. Além disso, a espectrofotometria não apresenta uma seletividade desejada, pois possui bandas de absorção, e não linhas. Uma alternativa, relativamente recente, para a determinação de compostos nitrogenados é a técnica de absorção molecular a partir de uma molécula diatômica, empregando um espectrômetro de absorção atômica (AAS) com fonte contínua <sup>13</sup>.

Devido a alta eletronegatividade dos ametais, que eleva o potencial de ionização, a espectrometria de absorção atômica com fonte de linhas (LS AAS) não apresenta uma fonte de radiação primária (LCO) para esse tipo de determinação, o que impossibilita a detecção e a quantificação por um AAS convencional <sup>12, 13</sup>. Além disso, o nitrogênio se encontra naturalmente no estado gasoso, dificultando ainda mais o seu depósito no catodo de uma LCO.

Recentemente, a técnica de espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (HR-CS MAS) vêm sendo empregada, de maneira indireta, para a determinação de ametais <sup>11, 14, 15</sup>. A maneira indireta envolve ligar o ametal em questão à outro elemento, para que então, a molécula formada seja detectada por meio de uma linha de absorção específica (comprimentos de onda específicos). Elementos como flúor, nitrogênio, cloro e bromo apresentam elevada eletronegatividade, o que favorece a formação de moléculas diatômicas estáveis, facilitando a determinação por absorção molecular utilizando o HR-CS MAS <sup>11, 12</sup>.

Assim, a proposta deste trabalho é o desenvolvimento de um método para a determinação de diferentes compostos nitrogenados nitrato, nitrito e PNP - utilizando a técnica de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua, de forma a monitorar esses tipos de compostos visando a especiação dos mesmos em amostras de água naturais e alimentos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Desenvolvimento de um método seletivo, sensível e rápido para a especificação das diferentes formas de compostos nitrogenados (nitrato, nitrito e PNP), empregando a técnica de redução fotolítica e geração de vapor com detecção por espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (UV/CVG-CS MAS). Após o desenvolvimento, o método será empregado para a especificação de compostos nitrogenados em amostras de águas naturais e alimentos enlatados visando a determinação de cada forma.

### 2.2 Objetivos Específicos

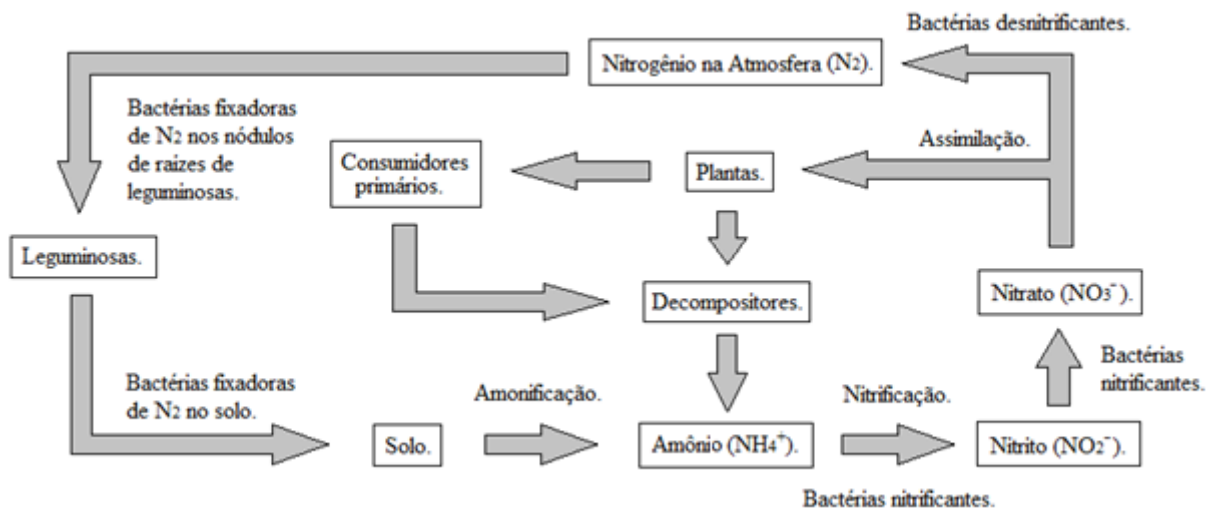
- a. Avaliar, separadamente, o comportamento e a eficiência do HR-CS MAS para a determinação de nitrito, empregando a técnica de formação de vapor de NO.
- b. Avaliar a eficiência da fotólise, na redução de nitrato à nitrito.
- c. Realizar testes com nitrato e nitrito na mesma amostra, avaliando a potencialidade do método para a especificação.
- d. Determinar a concentração de *p*-nitrofenol, empregando o sistema UV/CVG-CS MAS, a partir da geração de íon nitrito, que é produto de degradação do *p*-nitrofenol na presença de luz ultravioleta e peróxido de hidrogênio.
- e. Avaliar o comportamento das três espécies separadas, juntas na mesma solução e permutadas de duas em duas nos diferentes meios de determinação (tampão amônio/EDTA e em peróxido de hidrogênio ambas com e sem irradiação UV), de modo à especificar os compostos em questão.
- f. Determinar os compostos nitrogenados nas amostras de águas naturais e alimentos, realizando estudos de adição e recuperação afim de avaliar a eficiência da técnica.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 O Nitrogênio e suas espécies químicas

O nitrogênio é um dos elementos mais abundantes na natureza, tendo em vista que a maior parte do ar atmosférico é constituída por  $N_2$ . Além disso, suas formas inorgânicas, tais como o nitrato e o nitrito, mostram-se muito presentes no nosso meio, por fontes naturais, como mostra o ciclo biogeoquímico abaixo (Figura 1), ou por fontes antropogênicas <sup>1, 20</sup>.

Figura 1 - Ciclo biogeoquímico do nitrogênio.



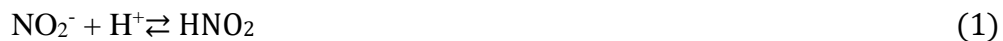
Fonte: Do autor.

Nitrato e nitrito são comumente adicionados em alimentos em conserva, embutidos, refeições prontas para bebês e molhos em geral, pois além de serem conservantes, são fixadores de cor e agentes de cura <sup>5, 6</sup>. Muitas vezes os restos destes alimentos ou as águas de conserva que os contém, que apresentam grandes quantidades desses íons, são despejados irregularmente para o meio ambiente.

A presença de nitrito e nitrato em águas naturais, mesmo que em baixas concentrações, é um indicativo de poluição, podendo ser proveniente de fertilizantes, defensivos agrícolas, explosivos, tintas, lixo doméstico, entre outros <sup>2, 3</sup>. A quantidade máxima permitida de nitrito e nitrato em águas naturais, segundo a resolução CONAMA

número 369 de 3 de abril de 2008, são de, respectivamente, 1,0 e 10,0 mg.L<sup>-1</sup> expressos em nitrogênio<sup>16</sup>.

O íon nitrito, quando ingerido, pode reagir com aminas secundárias ou terciárias formando as N-nitrosaminas, conhecidas por serem potenciais agentes carcinogênicos<sup>13, 17</sup>. As reações abaixo mostram a formação das N-nitrosaminas através da nitrosação de aminas pelo íon nitrito:



Fonte: RATH *et al.* 2009<sup>17</sup>

Quando presente na corrente sanguínea, o nitrito pode reagir com o ferro (II) da hemoglobina e formar a metahemoglobina (fMetHb), que não apresenta capacidade de transportar oxigênio, levando o indivíduo à uma síndrome clínica chamada metahemoglobinemia. Essa disfunção pode levar à falência respiratória celular, anemia funcional e hipóxia dos tecidos<sup>3, 5, 7</sup>.

A figura abaixo mostra as manifestações clínicas da metahemoglobinemia (MetHba) dependendo da concentração percentual de metahemoglobina no sangue:

Figura 2 - Correlação entre a porcentagem de fMetHb no sangue e as manifestações clínicas no indivíduo.

fMetHb (%)	Sinais e Sintomas
< 3 (normal)	Nenhum
3-15	Freqüentemente nenhum Pele acinzentada
15-30	Cianose Sangue marrom-chocolate
30-50	Dispnéia Cefaléia Fadiga, fraqueza Tonteira, síncope SpO <sub>2</sub> ~ 85%
50-70	Taquipnéia Acidose metabólica Arritmias cardíacas Convulsões Depressão do SNC Coma
> 70	Óbito

SNC — sistema nervoso central.

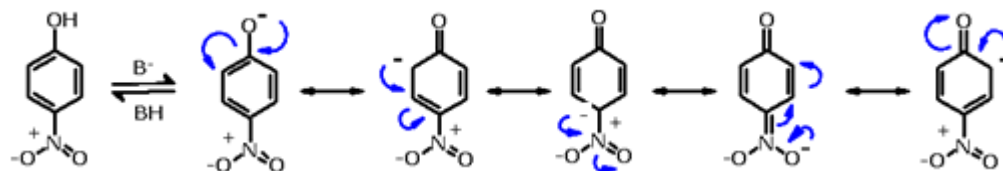
Fonte: NASCIMENTO *et al.* 2008<sup>5</sup>.

Já o nitrato não apresenta um efeito tão tóxico ao ser humano como o nitrito, porém, quando em contato com colônias de bactérias redutoras de nitrato, presentes na superfície dorsal da língua, o nitrato é reduzido à nitrito por meio da enzima nitrato redutase, tendo os mesmos efeitos toxicológicos do mesmo. Tais bactérias estão presentes na boca de todos os indivíduos, pois se trata de micro-organismos pertencentes à microbiota normal do ser humano <sup>7, 8</sup>. Estima-se que a dose ingerida de nitrato pelo ser humano atinja a marca de 75 a 100 mg por dia, em que 80% a 90% desse índice seja proveniente de vegetais e 5% a 10% da água consumida <sup>18</sup>.

O nitrato também é responsável pelo efeito de eutrofização, que surge quando se encontra em elevada concentração em ambientes aquáticos, normalmente levado para lagos, rios e represas por meio da lixiviação de fertilizantes nitrogenados. Com isso, a comunidade de algas cresce anormalmente pelo fato destas terem o nitrogênio como um importante nutriente para o seu desenvolvimento. Com o aumento das algas, o índice de turbidez na água aumenta e o oxigênio dissolvido diminui, o que acarreta diversos problemas ecológicos, podendo levar à extinção da vida presente nesses ambientes aquáticos <sup>3</sup>.

Uma outra classe de compostos importantes de serem monitorados são os poluentes orgânicos nitrogenados. Um exemplo dessa classe é o *p*-nitrofenol (PNP), comumente encontrados em dejetos industriais. Tais compostos apresentam uma grande estabilidade devido ao radical nitro estar ligado na posição *para* em relação à hidroxila do anel aromático, o que dificulta sua degradação através de técnicas oxidativas <sup>19</sup>. A imagem a seguir mostra os híbridos de ressonância do PNP, que são responsáveis pela estabilização da molécula:

**Figura 3** - Híbridos de ressonância do *p*-nitrofenol.



**Fonte:** Do autor.

Assim, o emprego de técnicas complementares, ou até alternativas, visando a determinação, ou seja, a especificação de tais compostos se mostra de grande importância, tanto no âmbito ecológico como toxicológico.

### 3.2 Determinação de compostos nitrogenados empregando técnicas instrumentais

A tabela a seguir traz algumas técnicas instrumentais encontradas na literatura que são utilizadas para a especiação de compostos nitrogenados, seus limites de detecção e a matriz em que se realizou a determinação:

**Tabela 1** - Técnicas instrumentais utilizadas na determinação de compostos nitrogenados.

Técnica	Matriz	LOD ( $\mu\text{M}$ )		Referência
		$\text{NO}_2^-$	$\text{NO}_3^-$	
CE	Fluido Biológico	1	1	(21)
Espectrofotometria	Água	0,11	0,86	(22)
Espectrofotometria	Água	0,57	0,43	(22)
Espectrofotometria	Água	0,14	0,1	(22)
Espectrofotometria	Alimento/Água	1,1	0,81	(23)
Espectrofotometria	Água	1,30	1,21	(24)
Espectrofotometria	Água	0,11	0,65	(25)
Espectrofotometria	Carne/Água	2,2	1,6	(26)
Espectrofotometria	Água	71	143	(26)
CZE	Água	0,28	0,15	(27)
CZE	Água/Urina	11	8,1	(28)
FIA/ Espectrofotometria	Solo	0,48	0,71	(29)

Fonte: Tabela adaptada de Moorcroft *et al.* 2001<sup>30</sup>

A determinação espectrofotométrica (reação de Griess) é utilizada na maioria das determinações, entretanto, possui algumas desvantagens, como a geração de compostos tóxicos ao meio ambiente, como os azocompostos, e uma baixa seletividade, principalmente quando aplicado em amostras complexas, como alimentos. Outras técnicas bastante empregadas são as técnicas de separação, como a eletroforese capilar (CE), eletroforese capilar de zona (CZE) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) as quais possuem a possibilidade de identificação de diferentes compostos ou estruturas por meio do processo de separação, porém, apresentam na maiorias das vezes detecção pouco seletivas, como UV/Vis, por possuírem bandas de absorção e não linhas, como por exemplo a espectrometria de

absorção atômica, que por esse fato, apresenta uma seletividade mais adequada à determinação de contaminantes nas amostras mais diversas.

### **3.3 Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS)**

Sabe-se que a espectrometria de absorção atômica (AAS) é amplamente utilizada para a determinação de elementos, em baixas concentrações relativas, em diversas amostras. A técnica consiste na absorção de radiação eletromagnética emitida por uma fonte de radiação primária, geralmente lâmpadas de cátodo oco (LCO), por átomos do elemento de interesse (analito) no estado gasoso fundamental. Com isso, o elemento na forma atômica absorve energia passando do estado fundamental para o estado excitado tendo, então, uma menor estabilidade. A razão entre a quantidade de radiação emitida e transmitida, antes e depois do atomizador (chama, forno de grafite ou cela de atomização), corresponde à absorvância ou absorvância, que é mensurada tendo uma relação direta com a concentração do analito segundo a lei de Lambert-Beer. Quanto maior o número de átomos gerados, a partir do elemento na amostra, maior a quantidade de radiação específica absorvida <sup>31</sup>.

Um das características dessa técnica é a seletividade, uma vez que cada elemento absorve radiação em um comprimento de onda específico, fazendo-se necessário uma fonte específica para emissão dessa radiação. Além disso, esses elementos devem possuir uma baixa energia de excitação, o que torna a técnica uma das mais empregadas para a determinação de metais e semi-metais, entretanto, a determinação de ametais não é possível, uma vez que possuem uma elevada energia de ionização e não exista uma fonte de radiação primária em um espectrômetro de absorção atômica com fonte de linhas (LS AAS) específica para ametais <sup>13</sup>.

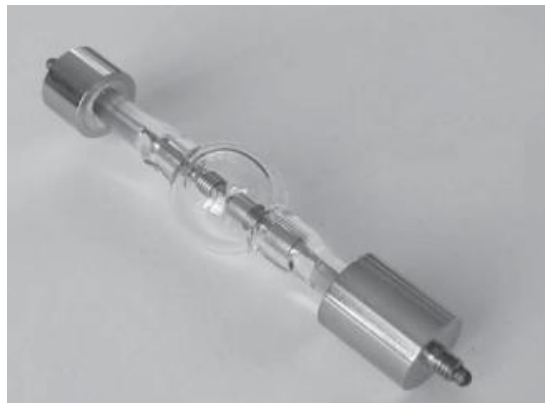
Uma alternativa bastante recente em relação à equipamentos AAS convencional é uma técnica que utiliza uma lâmpada de xenônio de alta intensidade, como fonte contínua. Tal técnica é chamada de espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS).

O primeiro instrumento de espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, semelhante ao modelo atual, tem sua origem em 1996, proposto e desenvolvido por Heitmann *et al* <sup>32</sup>. A partir dos estudos realizados por Heitmann, um

equipamento comercial foi desenvolvido e recebeu a denominação de ContrAA. Esse equipamento comercial possui uma lâmpada de arco curto de xenônio de alta pressão, operando em uma faixa contínua de emissão entre 190 e 850 nm e uma potência de 300 W. A lâmpada apresenta dois eletrodos de tungstênio, distando 1 mm entre eles. Além disso, o espectrômetro é constituído de um monocromador duplo tipo *echelle* (DEMON) com uma resolução de  $\lambda/\Delta\lambda \approx 140.000$  e um detector tipo CCD (dispositivo de carga acoplada) com resolução de 2 pm por pixel na faixa do UV distante (200 nm) <sup>13</sup>.

As Figuras 4 e 5 apresentam uma lâmpada de arco curto de xenônio, utilizada como fonte contínua, e um esquema demonstrando o arranjo de um HR-CS AAS:

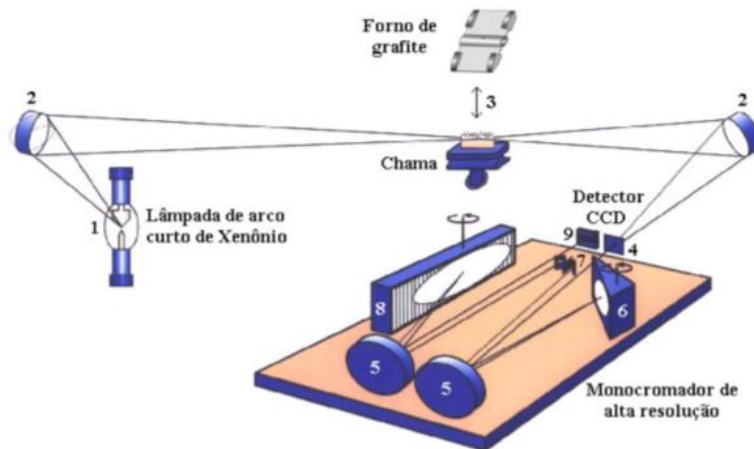
**Figura 4** - Lâmpada de arco curto de xenônio.



**Fonte:** LEPRI, 2005 <sup>33</sup>.

Durante a determinação de um elemento específico, a radiação incidente atravessa o sistema de atomização (chama, forno, etc.), como demonstrado na Figura 5, contendo o(s) elemento(s) de interesse, que é então direcionada ao DEMON, onde incidirá em um prisma responsável pelo efeito de pré-dispersão para, posteriormente, atingir a rede de difração *echelle*. Por fim, a distribuição espectral da radiação atinge o detector CCD <sup>34</sup>.

**Figura 5** - Representação esquemática do HR-CS AAS. (1) Lâmpada de arco curto de xenônio, (2) espelhos elipsoidais focalizadores, (3) atomizador de chama ou forno de grafite, (4) fenda de entrada, (5) espelhos parabolóides, (6) prima Littrow, (7) fenda intermediária ajustável, (8) rede *echelle* e (9) detector CCD.



Fonte: LEPRI, 2005<sup>33</sup>.

Essa nova configuração de espectrometria de absorção atômica (HR-CS AAS) possibilita algumas vantagens como a melhora da razão sinal/ruído - devido à elevada intensidade de emissão da fonte de radiação - correção simultânea da radiação de fundo - devido à detecção por CCD - correção automática de todos os eventos contínuos - como o ruído da lâmpada - além de apresentar uma única fonte de radiação para vários elementos, dispensando a necessidade de uma lâmpada de cátodo oco para cada elemento a ser analisado, como no LS AAS<sup>33,34</sup>.

Em relações à determinação direta de ametais, ou seja, a determinação do átomo no estado gasoso fundamental, tal técnica apresenta certa limitação. Um exemplo dessa limitação é a determinação de nitrogênio, o qual, na forma atômica, possui as principais linhas de absorção em comprimentos de onda abaixo de 150 nm, o que impossibilita a determinação de maneira direta em um HR-CS AAS, porém, de maneira indireta isso é possível, uma vez que, ao ligar o nitrogênio a um átomo de oxigênio, formando a molécula gasosa diatômica NO, a mesma absorve luz nos comprimentos de onda de 214,803 nm e 215,360 nm por meio da molécula formada (N-O)<sup>2, 12, 20</sup>. Essa nova vertente da técnica, proporcionada por essa nova configuração, possibilita a determinação de ametais por meio da formação de moléculas diatômicas, as quais absorvem luz em comprimentos de onda específicos. A partir dessa possibilidade a técnica não mais determina átomos, e sim moléculas, recebendo agora uma nova denominação: Espectrometria de Absorção Molecular (MAS).

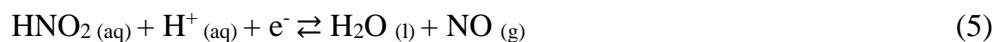
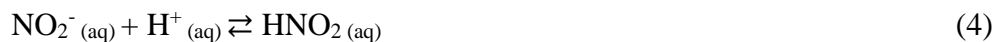
### 3.4 Espectrometria de absorção molecular com geração de vapor químico (CVG-CS MAS)

Uma das principais limitações da espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS), tanto a de fonte de linhas (convencional), como a de fonte contínua, é a sensibilidade (da ordem de  $\text{mg.L}^{-1}$ ), devido a incompleta introdução da amostra, uma vez que apenas 5% da mesma chega ao atomizador. No entanto, algumas alternativas são encontradas na literatura para tentar melhorar a sensibilidade do FAAS.

Uma alternativa, bastante promissora para a melhora da sensibilidade é a geração de vapor químico (CVG), que consiste na transformação do analito, que se encontra na forma não gasosa na amostra, em espécies voláteis por meio de reações químicas específicas, possibilitando assim que aproximadamente 100% do analito seja transportado ao atomizador<sup>35,36</sup>. A geração de vapor químico tem sido empregada com grande êxito, devido à melhora na sensibilidade e na seletividade da técnica, por proporcionar a separação efetiva da matriz - eliminando certos tipos de interferências - e pré-concentração do analito, obtida na cela de atomização. Outra vantagem do método é a possibilidade de hifenação, de maneira simples, ao espectrômetro de absorção atômica com atomização em chama, o que nem sempre é possível para o módulo de forno de grafite (GF)<sup>35</sup>. Entretanto, a técnica CVG pode ser associada/hifenada a outros espectrômetros, como a Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) e a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS).

A técnica CVG convencional inclui a geração de hidretos (HG), geração de haletos, geração eletroquímica de vapor, além da geração de vapor do próprio elemento, como o caso do cádmio e do mercúrio. Entretanto, algumas dessas técnicas apresentam um elevado custo e/ou a desvantagem por produzir resíduos tóxicos, como o tetrahidroborato de sódio<sup>37</sup>. Tais técnicas são empregadas, na grande maioria das vezes, para a geração de compostos voláteis de metais ou semi-metais.

No caso dos ametais, tendo como exemplo os compostos nitrogenados apresentados nesse trabalho, há a possibilidade da formação da molécula gasosa de NO (CVG), por meio das reações do íon nitrito com os ácidos clorídrico e ascórbico, visando a melhora na sensibilidade do método. As reações que controlam esse processo estão descritas abaixo.



Fonte: BRANDAO *et al.* 2012 <sup>2</sup>

A importância do emprego de um ácido forte (HCl), no processo de formação de NO, vem da participação do íon H<sup>+</sup> no processo de formação da molécula diatômica (reações 4 e 5) afim de que o íon nitrito gere ácido nitroso para que, então, com os elétrons doados pelo ácido ascórbico (agente redutor), haja a liberação de NO na forma gasosa, como ilustra a reação (5), o qual será determinado na cela de quartzo do espectrômetro.

Dessa maneira, obtendo-se a molécula diatômica de NO como produto final das etapas de fotorredução/foto-oxidação (UV) dos analitos estudados nesse trabalho, podemos especiar cada composto em questão com uma sensibilidade adequada - provinda da pré-concentração do vapor de NO gerado na cela de quartzo - e uma melhor seletividade, proporcionada pela seletiva geração da molécula de NO empregando a técnica UV/CVG-CS MAS.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

A seguir os reagentes, soluções, equipamentos utilizados, a metodologia aplicada e o preparo de amostras para a realização desse trabalho serão descritos detalhadamente.

### 4.1 Soluções e reagentes

Soluções padrão de nitrito, nitrato e PNP à  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$  foram preparadas pela dissolução das respectivas massas de 0,150 g de  $\text{NaNO}_2$  (Sigma-Aldrich, EUA), 0,137 g de  $\text{NaNO}_3$  (Sigma-Aldrich, EUA) e 0,100 g de 4-Nitrophenol (Sigma-Aldrich, EUA) em 100 mL de água deionizada ultrapura (Milli-Q 18,2  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ , Direct-Q® 3UV, Milipore), e posteriormente, mantidas sob refrigeração em frascos de polipropileno de alta densidade. As soluções de ácido ascórbico 3,5% ( $\text{m.v}^{-1}$ ) foram preparadas, diariamente, diluindo-se 3,5 g de ácido ascórbico (Sigma-Aldrich, EUA) em 100 mL de água deionizada ultrapura. O ácido clorídrico  $3,0 \text{ mol.L}^{-1}$  também foi preparado, diariamente, diluindo-se 25,7 mL de HCl 37% (Sigma-Aldrich, EUA) em 100 mL de água deionizada ultrapura. A solução de tampão amônio foi feita dissolvendo-se uma massa de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (Sigma-Aldrich, EUA) de 10,75 g em 100 mL de água deionizada ultrapura, ajustando o pH para 7,97 com NaOH  $15 \text{ mol.L}^{-1}$ , com o auxílio de um pHmetro (Modelo LUCA-210, Lucadema). A solução foi estocada semanalmente sob refrigeração em frasco de polipropileno de alta densidade. Todas as massas acima foram calculadas levando em consideração a pureza dos reagentes.

### 4.2 Instrumentação

As determinações dos compostos nitrogenados foram realizadas empregando um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, modelo ContraAA 300 (Analytik Jena, Alemanha), acoplado a um sistema de geração de vapor químico HS60A (Analytik Jena – Alemanha) com fluxo carregador de argônio de alta pureza (White Martins 99,999%), a uma vazão de  $6 \text{ L.H}^{-1}$ . As vazões empregadas de ácidos clorídrico, ácido

ascórbico e amostra foram de  $8,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Como fonte de radiação primária, utilizou-se uma lâmpada de arco curto de xenônio ( $214,803 \text{ nm}$  e  $13 \text{ ampère}$ ) incidindo em um sistema de atomização composto por uma cela de quartzo (Figura 6.1), aquecida eletrotermicamente por um forno (Figura 6.2) controlado pelo programa do equipamento.

**Figura 6** - Fotografias da cela de quartzo (1) envolta do sistema de aquecimento eletrotérmico (2).



**Fonte:** Do autor.

O sistema fotolítico (fotorredução e/ou foto-oxidação) é constituído de um reator fotoquímico (caixa de madeira), coberto internamente com folhas de papel alumínio. Na parte superior interna da caixa, duas lâmpadas germicidas ( $254 \text{ nm}$  e potência de  $15 \text{ watts}$ ) foram fixadas. As lâmpadas foram enoveladas com  $437 \text{ cm}$  de tubo de PTFE (aproximadamente  $15$  voltas nas duas lâmpadas), apresentando, aproximadamente,  $10 \text{ cm}$  de diâmetro cada volta do enovelamento (Figura 7). Após a exposição, a amostra é levada para o sistema de geração de vapor químico. O sistema fotolítico foi acoplado diretamente ao CVG, como mostra a imagem abaixo (Figura 8).

**Figura 7** - Fotografia do reator fotoquímico utilizado para a fotólise (câmara fotolítica).



**Fonte:** Do autor.

**Figura 8** - Fotografia do sistema UV/CVG para a fotolítica redução/oxidação de compostos nitrogenados visando a geração de moléculas de NO.



**Fonte:** Do autor.

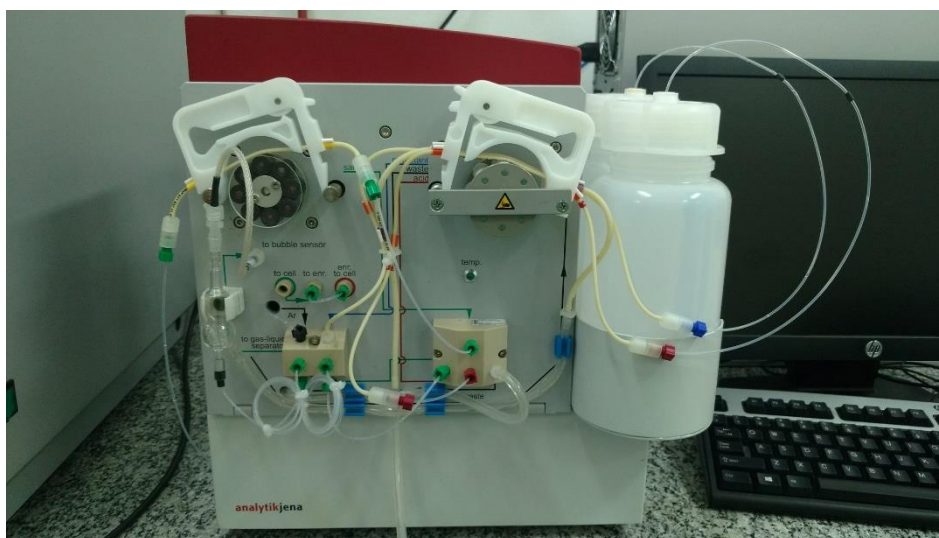
### 4.3 Otimização do sistema UV/CVG-CS MAS para a determinação de diferentes compostos de nitrogênio

A seguir, a metodologia é descrita para cada analito em questão e como foi realizado o método de especiação entre eles, sempre buscando como produto final da fotólise de cada analito a molécula de NO, que é determinada pelo espectrômetro.

#### 4.3.1 Determinação de nitrito

Primeiramente, o íon nitrito foi determinado, uma vez que o mesmo gera a molécula NO de modo direto. Com a presença de ácido clorídrico e ácido ascórbico, o nitrito é reduzido em meio ácido gerando a molécula diatômica NO, que por ser gasosa, é carregada pelo gás argônio do sistema de geração de vapor químico (Figura 9) diretamente para a cela de quartzo.

**Figura 9** - Fotografia do sistema de geração de vapor químico (HS60A) comercial empregado para a geração de NO.



**Fonte:** Do autor.

Nessa etapa, alguns fatores foram otimizados, como a linha de absorção mais sensível, temperatura da cela de quartzo, vazão de argônio (gás carreador do vapor de NO formado), concentração dos ácidos clorídrico e ascórbico e as vazões dos reagentes no sistema

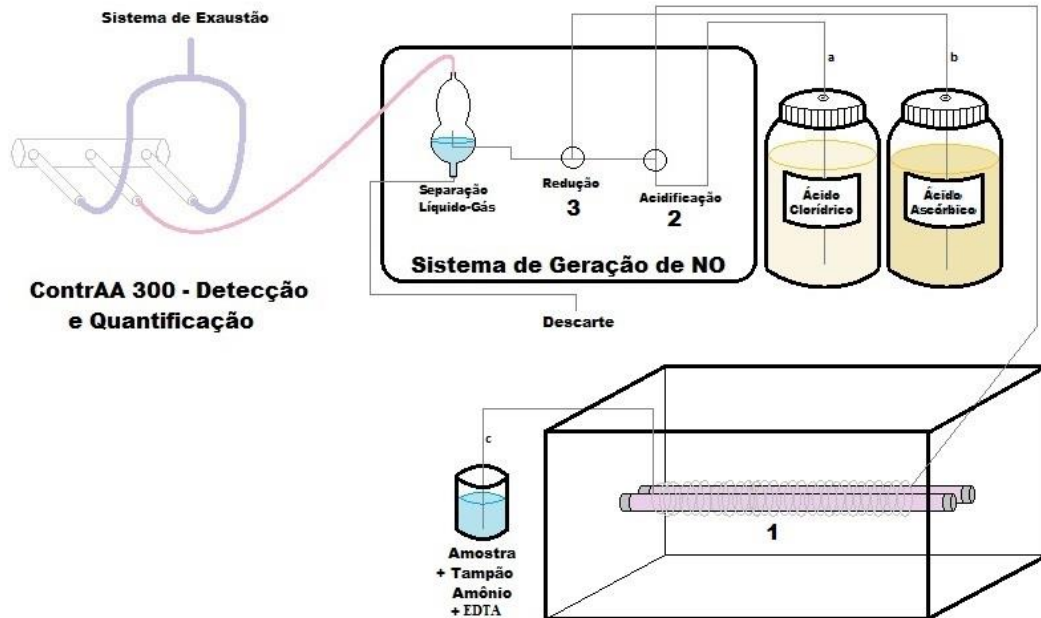
CVG - que compreende aos ácidos clorídrico, ascórbico e a amostra. As vazões foram verificadas utilizando uma proveta, relacionando quantos mililitros de amostra, ácido clorídrico e ácido ascórbico correspondiam às velocidades 1, 2, 3 e 4 do programa controlador do sistema HS60A e ContrAA 300 em um minuto. As vazões encontradas foram de 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 mL.min<sup>-1</sup>.

#### 4.3.2 *Determinação de nitrato*

Após a otimização do sistema para a determinação de nitrito, foi necessária a redução do nitrato à nitrito, uma vez que o sistema não é capaz de gerar NO, molécula diatômica detectável, a partir de íons nitrato. Foram avaliados diferentes redutores químicos como a hidrazina, a tiouréia, o iodeto de potássio, o borohidreto de sódio e o ácido ascórbico, entretanto, nenhum reagente se mostrou eficiente para a redução de nitrato. O método de redução em coluna de cádmio na presença de cobre, foi descartado devido à geração de resíduos tóxicos. A redução do nitrato por meio da luz ultravioleta <sup>3</sup>, na presença de tampão amônio e EDTA, foi avaliado como alternativa, priorizando a não utilização/geração de resíduos nocivos à saúde e ao meio ambiente. Para esse fim, o sistema fotolítico foi avaliado a fim de reduzir nitrato a nitrito.

Quando não aplicado o método de redução (irradiação de luz ultravioleta), apenas o nitrito pode ser determinado por HR-CS MAS, uma vez que o sistema não determina o nitrato de maneira direta assim, a especiação pode ser realizada sem a necessidade de hifenação à técnicas cromatográficas. Quando aplicado o método de redução do nitrato a nitrito, a quantidade de nitrato reduzida se soma à de nitrito inicial, sendo determinada pelo equipamento a concentração total de nitrito (nitrito + nitrato). Por uma simples conta de subtração, foi obtida a concentração de nitrato na amostra. Nesta etapa, a otimização do sistema foi realizada, variando parâmetros como a concentração de cloreto de amônio presente no tampão, tempo de exposição à luz UV e pH do meio reacional. Podemos ver na figura abaixo, o esquema do sistema montado para a especiação dos íons nitrito e nitrato e a fotografia do mesmo (Figuras 10 e 11):

**Figura 10** - Esquema do sistema de especiação dos íons nitrito/nitrato. (1) Luz ultravioleta. Quando desligada, o sistema determina apenas o íon nitrito. Quando ligada, o sistema determina os íons nitrito e nitrato. (2) Processo de acidificação do íon nitrito original/gerado de íon nitrato. (3) Processo de redução do íon nitrito original/gerado do íon nitrato. As vazões em (a), (b) e (c) foram todas de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>.



Fonte: Do autor.

**Figura 11** - Fotografia do sistema empregado para a especiação dos íons nitrito/nitrato.

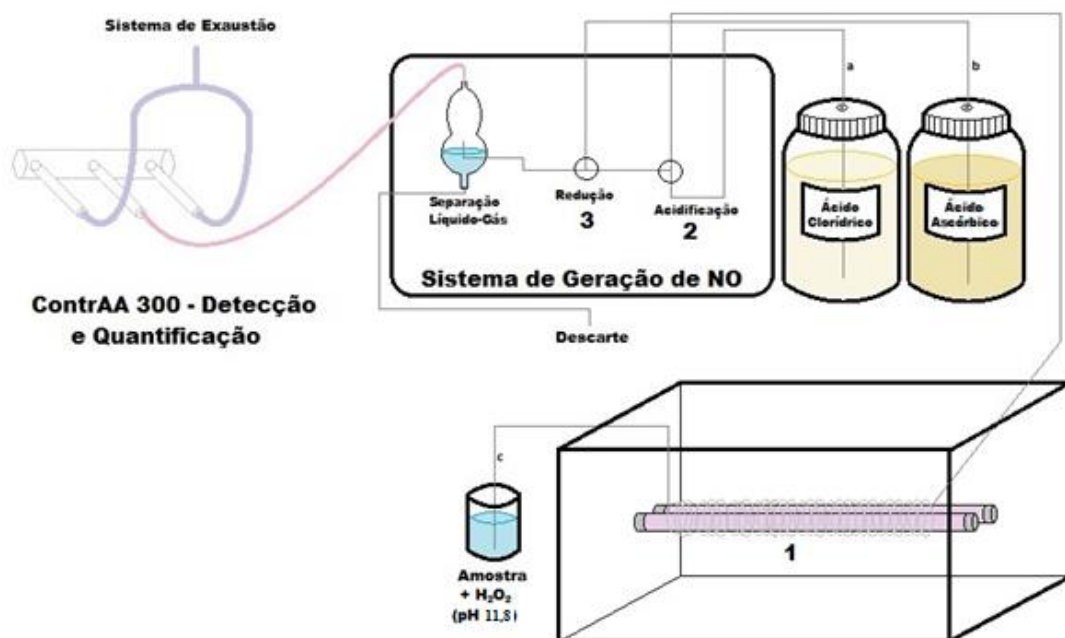


Fonte: Do autor.

### 4.3.3 Determinação de *p*-nitrofenol (PNP)

Para a determinação de moléculas orgânicas nitrogenadas, como o PNP, empregando o sistema proposto, a técnica de degradação <sup>9</sup> (foto-oxidação na presença de peróxido de hidrogênio) foi aplicada, para que o grupo nitro, antes ligado à molécula, seja desligado da estrutura orgânica. É preferível que essa etapa ocorra sem a oxidação do mesmo, ou seja, na forma de nitrito, para que então seja convertido à NO. O processo foi testado para a determinação/especificação de PNP e para otimização dessa etapa, fatores como o tempo de exposição à luz UV, concentração de peróxido de hidrogênio e o pH do meio reacional foram avaliados. A determinação de PNP foi realizada empregando o mesmo sistema fotolítico para a determinação de nitrato (Figura 11), com apenas a mudança no emprego do agente associado à amostra, o emprego de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Figura 12).

**Figura 12** - Esquema do sistema de determinação de PNP. (1) Luz ultravioleta. (2) Processo de acidificação do íon nitrito liberado no processo de degradação do PNP. (3) Processo de redução do íon nitrito liberado no processo de degradação do PNP. As vazões em (a), (b) e (c) foram de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>.



Fonte: Do autor.

#### 4.4 Preparo de amostras

Foram analisadas amostras de alimentos enlatados, adquiridas em supermercados locais, sendo uma amostra de salsicha, duas amostras de milho e duas amostras de ervilha. Além das amostras de alimentos, duas amostras de águas naturais foram analisadas (adquirida em Mariana e outra da torneira do laboratório de preparo de amostras, da UNIFAL-MG, em Poços de Caldas). A especiação de nitrito, nitrato e PNP nas amostras de alimentos e águas naturais foi realizada empregando o sistema UV/CVG-CS MAS otimizado para cada espécie. Para a análise da água de conserva, a lata contendo o alimento foi levemente homogeneizada, e então, a água de conserva foi filtrada em papel filtro (80g 90 mm, Unifil). Logo após, a mesma foi diluída em tampão amônio/EDTA e em peróxido de hidrogênio, na proporção de 1:4, para as determinações de nitrato e PNP, respectivamente. A especiação das amostras foi realizada aplicando a fotorredução e/ou foto-oxidação das amostras (água de conserva). Já os alimentos (parte sólida), foram secos em estufa, à 70 °C, até atingir massa constante e, após essa etapa, macerou-se os alimentos por quarenta segundos, em almofariz de cerâmica. Em seguida o material sólido foi disperso em água deionizada, para, posteriormente, realizar a extração química dos analitos. O processo de extração é feito agitando-se as amostras por 40 minutos à uma temperatura de 70 °C, com água deionizada <sup>38, 39, 40, 41</sup>. As amostras foram centrifugadas, e, em seguida, o sobrenadante (meio extrator) foi filtrado e diluído na proporção 1:4, com tampão amônio/EDTA e com peróxido de hidrogênio. Após o preparo, as determinações de nitrato, nitrito e PNP foram realizadas empregando o sistema proposto. Todas as análises e determinações foram realizadas em triplicata.

#### 4.5 Especiação de compostos nitrogenados nas amostras

Curvas de calibração foram contruídas, contendo diferentes concentrações das espécies nitrogenadas em questão, para que se pudesse avaliar o comportamento de cada analito na água de conserva dos alimentos estudados, nos alimentos sólidos e nas águas naturais.

Para a avaliação da exatidão do método proposto, foram realizados testes de adição e recuperação dos analitos. Para esse fim, as amostras de água de conserva foram fortificadas

com as diferentes formas de compostos nitrogenados, visando uma concentração final de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de cada analito, para que então as determinações, em cada condição de especiação, pudessem ser realizadas.

As amostras de alimentos sólidos foram umidificadas com as diferentes formas de compostos nitrogenados (nitrito, nitrato e PNP) no volume de 40 µL das soluções padrão de 1000 mg.L<sup>-1</sup>. Após a secagem dos alimentos, e, em seguida, o processo de extração, o volume final foi de 20 mL (15 mL do meio reacional e 5 mL da água de extração), levando a uma concentração final de cada analito de 0,5 mg.L<sup>-1</sup>. A determinação, das diferentes formas de compostos nitrogenados foi realizada empregando as condições otimizadas no estudo do sistema UV/CVG-CS MAS.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o desenvolvimento do método de especificação dos compostos nitrogenados neste trabalho, a otimização das variáveis para a determinação do nitrito, nitrato e PNP foi realizada, separadamente, e determinações pontuais e conjuntas dos analitos foram realizadas para a avaliação do método proposto, indicando, também, se há algum tipo de interferência nas amostras. Com isso, pode-se avaliar a eficiência da especificação dos compostos nitrogenados nas diferentes matrizes.

### 5.1 Otimização do sistema UV/CVG-CS MAS para determinação de nitrito

Para o íon nitrito, as variáveis otimizadas foram a linha de absorção mais sensível, a temperatura da cela de quartzo, a vazão do gás argônio, a vazão do sistema CVG - que compreende os ácidos clorídrico e ascórbico e também a amostra - além das concentrações desses mesmos ácidos, que são fundamentais para a protonação do íon nitrito e consequente redução à vapor de NO.

#### 5.1.1 *Linha de absorção*

A técnica HR-CS AAS (ou MAS), possibilita a escolha do comprimento de onda monitorado para o processo de absorção atômico ou molecular. Assim, realizou-se a avaliação da linha de absorção mais sensível para a determinação de NO, no equipamento. A eficiência pode variar, significativamente, dependendo da capacidade de absorção, interferências espectrais do meio e comportamento do analito. A partir de trabalhos encontrados na literatura<sup>2, 20</sup> foram avaliadas duas linhas de absorção, para a determinação de nitrito, visando a necessidade para futuras determinações, como interferências espectrais. Além da busca por uma menor interferência, a sensibilidade e o comportamento do pico foram avaliados para a escolha do comprimento de onda para a medida de absorção de NO. Os parâmetros iniciais utilizados se encontram presentes na Tabela 2.

**Tabela 2** - Condições experimentais utilizadas na determinação de nitrito com base no artigo de Brandao *et al.* <sup>2</sup>.

Variável	Valor
Temperatura da cela	700° C
Vazão do sistema CVG	8,0 mL.min <sup>-1</sup>
Vazão de argônio	6 L.H <sup>-1</sup>
Concentração de HCl	2,0 mol.L <sup>-1</sup>
Concentração de Ác. Ascórbico	1,5% (mv <sup>-1</sup> )

Fonte: Do autor

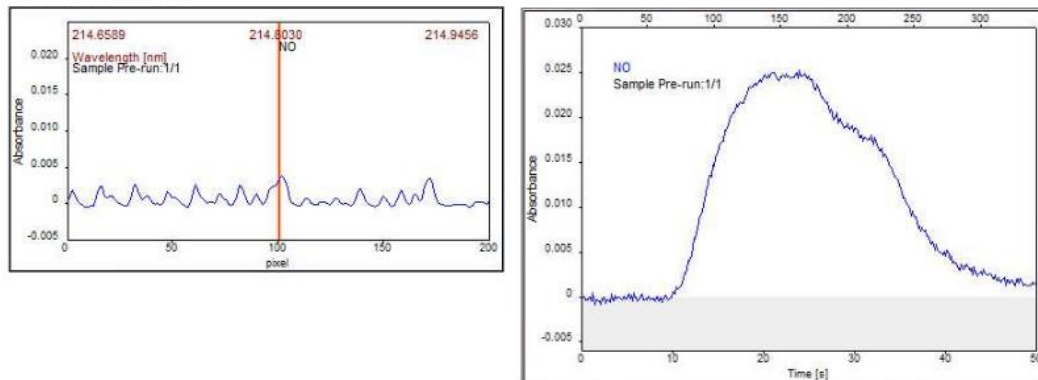
De acordo com os sinais de absorbâncias, obtidos em cada linha, conforme se encontram na Figura 13 e dos valores encontrados na Tabela 3, podemos observar que ambas as linhas podem ser utilizadas para a determinação da molécula de NO, porém, a linha com o comprimento de onda de 214.803 nm possibilitou uma maior sensibilidade para a detecção do analito, e com isso, foi escolhida para a sequência dos estudos. A Figura 13 traz a imagem dos espectros obtidos para cada uma das linhas selecionadas.

**Tabela 3** - Absorção média, desvio padrão e desvio padrão relativo obtidos nas duas linhas de absorção utilizadas.

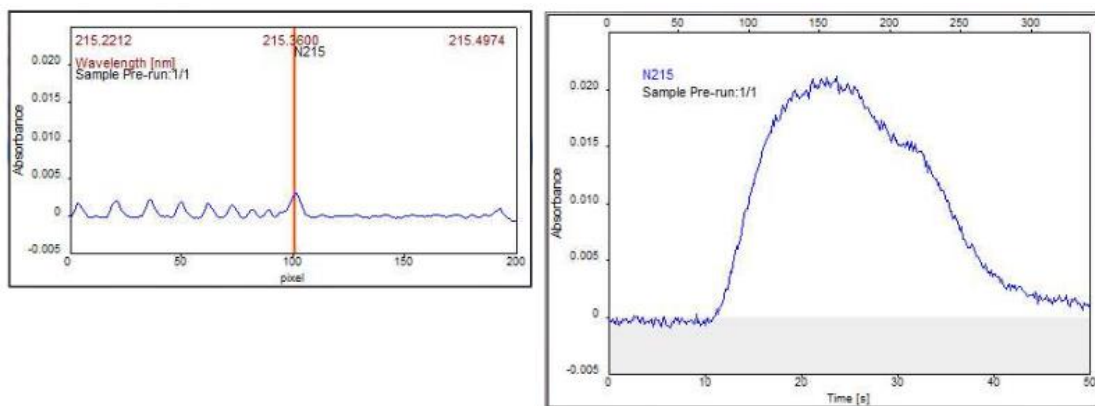
Linha de absorção	Absorbância	SD	RSD (%)
214.803 nm	0,49359	0,01639	3,3
215.360 nm	0,40337	0,00638	1,6

Fonte: Do autor

**Figura 13** - Sinais de absorção da molécula de NO, obtidos nos comprimentos de onda de (1) 214.803 nm e (2) 215.360 nm. Medida realizada com uma solução 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>).



(1)



(2)

**Fonte:** Do autor.

### 5.1.2 Temperatura da cela de quartzo

Foram estudadas diferentes temperaturas na cela de quartzo aquecida eletrotermicamente, a fim de saber o comportamento da molécula de NO. Com isso, podemos analisar os valores de absorção encontrados, juntamente, ao desvio padrão relativo associado, definindo assim, a temperatura mais adequada por proporcionar maior estabilidade e sensibilidade nas medidas. As temperaturas avaliadas foram correspondentes ao limite do equipamento, que variaram de 600 °C à 900 °C, como mostra a Tabela 4:

**Tabela 4** - Absorção média, desvio padrão e desvio padrão relativo obtidos na variação de temperatura de cela utilizada. As medidas foram realizadas com  $[\text{NO}_2] = 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ , em 214.803nm, vazão do sistema de  $8,0 \text{ mL.min}^{-1}$  e vazão de argônio em  $6 \text{ L.H}^{-1}$ .

<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Absorbância</b>	<b>SD</b>	<b>RSD (%)</b>
<b>600</b>	0,49359	0,01639	3,3
<b>650</b>	0,44828	0,00565	1,3
<b>700</b>	0,43062	0,01916	4,4
<b>750</b>	0,40745	0,01530	3,8
<b>800</b>	0,39155	0,01830	4,7
<b>900</b>	0,31792	0,01605	5,0

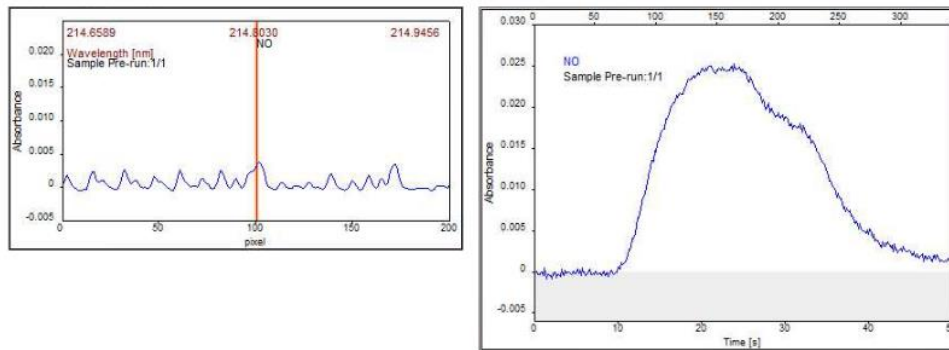
Foram mantidas as mesmas condições experimentais da tabela 1, mas com a linha de absorção em 214.803 nm.

**Fonte:** Do autor

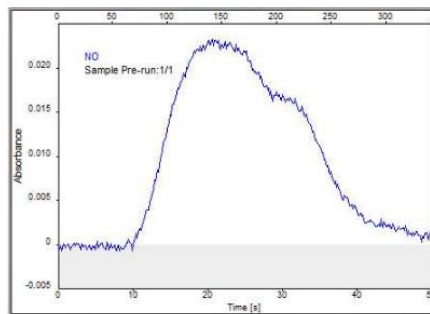
Os resultados obtidos demonstram maior absorção em 600 °C. À medida que a temperatura aumenta, o sinal diminui provavelmente por se tratar de uma molécula com baixa estabilidade térmica e/ou uma maior dispersão gasosa no interior da cela de quartzo. A temperatura escolhida para a determinação foi de 600 °C, por ter uma absorção mais elevada e apresentar um baixo valor de desvio padrão relativo. Infelizmente não foi possível avaliar temperaturas menores que 600 °C, pois o equipamento não possibilita essa opção.

A Figura 14 ilustra os espectros obtidos com o aumento da temperatura na cela de quartzo:

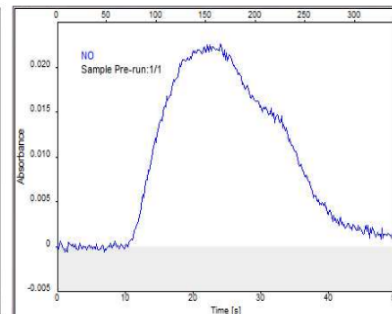
**Figura 14** - Sinais obtidos com as temperaturas de (1) 600 °C, (2) 650 °C, (3) 700 °C, (4) 750 °C, (5) 800 °C e (6) 900 °C. As medidas foram realizadas com  $[\text{NO}_2] = 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ , em 214.803nm, vazão do sistema de  $8,0 \text{ mL.min}^{-1}$  e vazão de argônio em  $6 \text{ L.H}^{-1}$ .



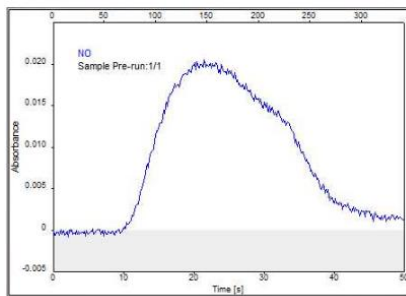
(1)



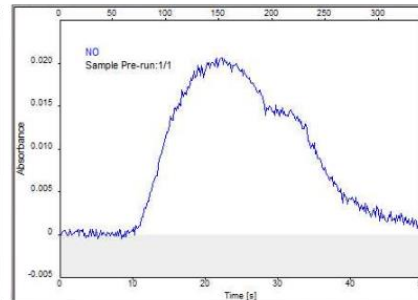
(2)



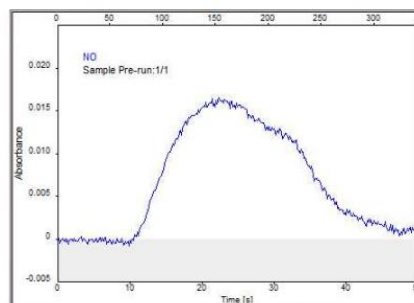
(3)



(4)



(5)



(6)

Fonte: Do autor.

### 5.1.3 Vazões dos reagentes do sistema UV/CVG-CS MAS

As vazões dos reagentes, no sistema de geração de vapor, foram avaliadas a fim de se obter a quantidade necessária dos ácidos na reação, além de se estudar a cinética de formação do NO por meio do aumento da vazão dos reagentes.

Foram analisados os sinais de absorvância referente às vazões correspondentes aos números 1, 2, 3 e 4 do programa (controle) do equipamento, como mostrado na Tabela 5, respectivamente, de 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 mL.min<sup>-1</sup>. Os valores referentes às vazões compreendem a amostra e ambos os ácidos (clorídrico e ascórbico), utilizados na formação de NO. O programa não possibilita que as vazões sejam diferentes entre si em cada canal (amostra, ácido clorídrico e ácido ascórbico), não possuindo sistema de vazões independentes.

**Tabela 5** - Absorção média, desvio padrão e desvio padrão relativo obtidos na variação da vazão da amostra e dos ácidos envolvidos do sistema CVG para a geração de vapor de NO. As medidas foram realizadas com [NO<sub>2</sub><sup>-</sup>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, em 214.803nm, temperatura da cela de quartzo de 600°C e vazão de argônio em 6 L.H<sup>-1</sup>.

Vazão (mL.min <sup>-1</sup> )	Absorvância	SD	RSD (%)
4,0	0,25501	0,08747	34,3
6,0	0,31795	0,07949	25,0
8,0	0,33721	0,02866	8,5
10,0	0,33026	0,02774	8,4

Fonte: Do autor

A Tabela 5 indica que as duas primeiras vazões (4,0 e 6,0 mL.min<sup>-1</sup>) apresentam um desvio padrão relativo muito elevado. Já as duas últimas vazões (8,0 e 10,0 mL.min<sup>-1</sup>) são estatisticamente iguais, tendo em vista a absorvância relativa e a margem de erro presente em ambas.

Uma possível explicação para esse comportamento é que em menores velocidades ocorre uma menor turbulência no sistema, o que leva a um menor choque entre as moléculas envolvidas na reação, diminuindo a cinética de formação da molécula de NO. Dentre as maiores velocidades estudadas, a escolhida foi a de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>, devido ao menor consumo de reagentes nas análises comparada a velocidades de 10,0 mL.min<sup>-1</sup>.

#### 5.1.4 Vazão de argônio

Outro fator otimizado nessa etapa foi a vazão do gás carreador de vapor de NO, o argônio. Foi necessário saber qual a vazão mínima ideal para se carrear o maior número de moléculas do analito formadas sem que a turbulência na cela de quartzo, devido à uma maior vazão do gás, prejudique a leitura, causando uma diminuição da absorbância e um acréscimo no desvio padrão relativo. O aparelho dispõe de 3 diferentes vazões de argônio, sendo elas de 6, 25 e 31 L.H<sup>-1</sup> como mostra a Tabela 6.

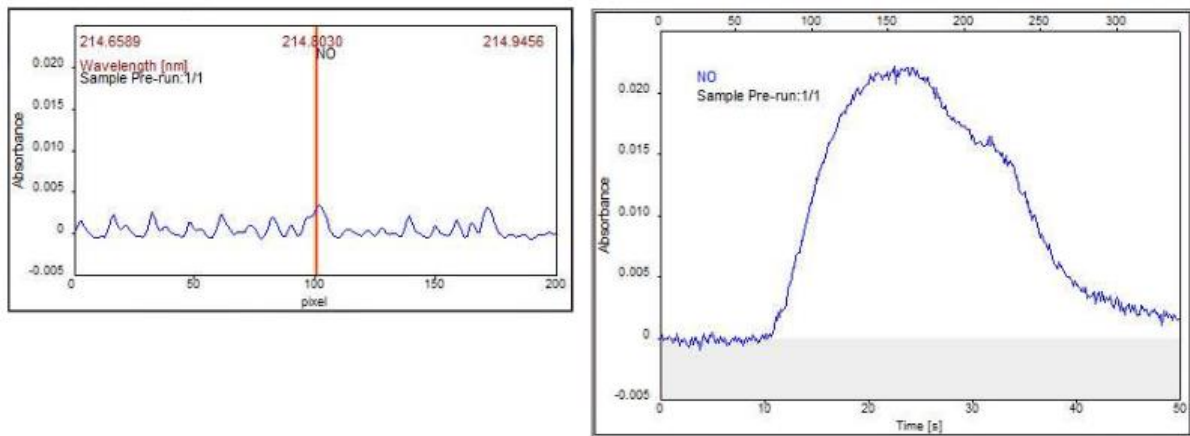
**Tabela 6** - Absorção média, desvio padrão e desvio padrão relativo obtidos na variação da vazão de argônio. As medidas foram realizadas com [NO<sub>2</sub>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, em 214.803nm, temperatura da cela de quartzo em 600 °C e vazão do sistema CVG de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>.

Vazão (L.H <sup>-1</sup> )	Absorbância	SD	RSD (%)
6	0,45316	0,01902	4,4
25	0,15138	0,01051	6,9
31	0,10979	0,00787	7,2

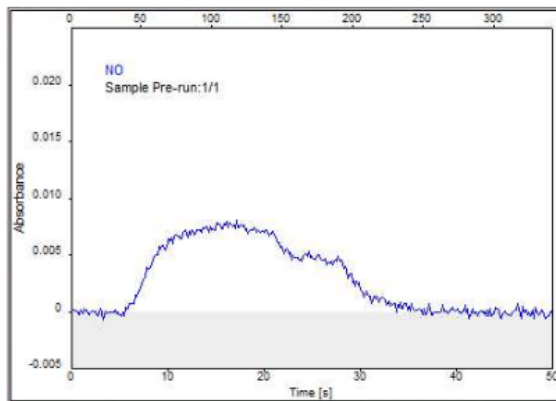
Fonte: Do autor

Pode-se observar que a absorbância aumenta com o decréscimo da vazão de argônio, possivelmente devido a uma menor dispersão do gás NO no interior da cela, proporcionando uma maior concentração da nuvem de moléculas diatômicas. Com isso, a vazão escolhida foi a menor possível, correspondendo a 6 L.H<sup>-1</sup>. As imagens abaixo ilustram, claramente, a perda de sinal que ocorre quando aumenta-se a vazão do gás carreador para a cela de quartzo.

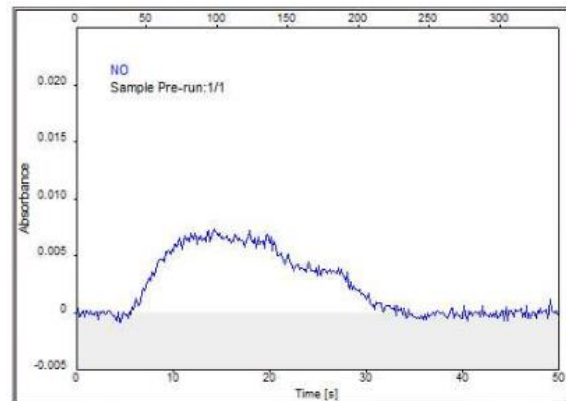
**Figura 15** - Sinais obtidos com as vazões de argônio de (1) 6 L.H<sup>-1</sup>, (2) 25 L.H<sup>-1</sup> e (3) 31 L.H<sup>-1</sup>. As medidas foram realizadas com [NO<sub>2</sub>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, em 214.803nm, temperatura da cela de quartzo em 600 °C e vazão do sistema CVG de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>.



(1)



(2)



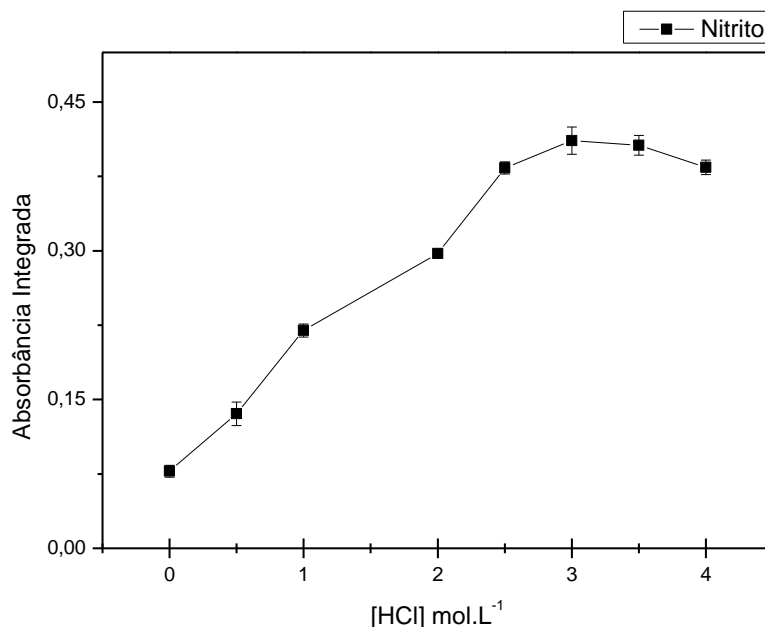
(3)

Fonte: Do autor.

### 5.1.5 Concentração do ácido clorídrico

Um dos principais reagentes, responsável pela redução do nitrito à NO, é o ácido clorídrico (HCl), uma vez que a redução ocorre quando o nitrito está protonado, conforme mostra a reação (4) da seção 3.4. Assim, a concentração de HCl foi estudada no intervalo de 0,0 a 4,0 mol.L<sup>-1</sup>, com o intuito de avaliar o comportamento e a eficiência do processo de redução do íon nitrito em meio ácido, como mostra a Figura 16, empregando a menor quantidade possível de HCl, visando a menor geração de resíduo.

**Figura 16** - Absorbâncias integradas médias obtidas com o aumento da concentração de ácido clorídrico (em mol.L<sup>-1</sup>) no sistema CVG. As medidas foram realizadas com [NO<sub>2</sub>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, em 214.803 nm, vazão do sistema CVG de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>, temperatura da cela de quartzo em 600 °C e vazão de argônio em 6 L.H<sup>-1</sup>.



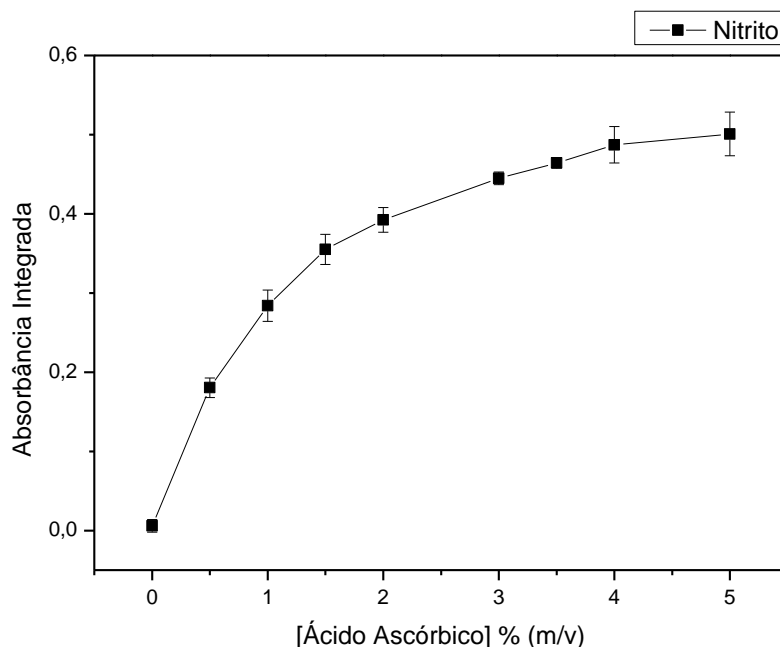
**Fonte:** Do autor.

Observa-se, na Figura 16, que concentração menores que 3,0 mol.L<sup>-1</sup> de HCl resultam em menores valores de absorbância devido, possivelmente, a uma quantidade insuficiente de H<sup>+</sup> para a maior protonação do íon nitrito, gerando ácido nitroso que, conseqüentemente, será reduzido à NO. À partir de 3,0 mol.L<sup>-1</sup> a solução fica saturada de íons H<sup>+</sup>, não havendo necessidade de aumentar a concentração de HCl, pois a maior quantidade possível de íons nitrito já foi protonada, uma vez que a absorbância se mantém constante. Com isso, a concentração escolhida foi de 3,0 mol.L<sup>-1</sup>, priorizando o menor consumo possível de reagentes químicos.

### 5.1.6 Concentração do ácido ascórbico

Assim como o ácido clorídrico, o ácido ascórbico desempenha uma importante função na redução do íon nitrito à NO, sendo responsável pela doação de elétrons ao ácido nitroso. A concentração de ácido ascórbico foi estudada no intervalo de 0,0 a 5,0% (m.v<sup>-1</sup>), e o sinal relativo à absorbância foi monitorado nesse intervalo, como mostra a Figura 17:

**Figura 17** - Sinais de absorvância integrada médias obtidos com o aumento da concentração de ácido ascórbico (em % m.v<sup>-1</sup>) no sistema CVG. As medidas foram realizadas com [NO<sub>2</sub>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, em 214.803nm, vazão do sistema CVG de 8,0 mL.min<sup>-1</sup>, temperatura da cela de quartzo em 600 °C e vazão de argônio em 6 L.H<sup>-1</sup>.



**Fonte:** Do autor.

De maneira semelhante ao que aconteceu na variação da concentração do ácido clorídrico, observa-se na Figura 17 que a partir de 3,5% (m.v<sup>-1</sup>) a quantidade de elétrons necessários para a redução do ácido nitroso à NO se satura, uma vez que a partir dessa concentração limite a absorvância não varia significativamente. Com isso, a concentração escolhida foi de 3,5% (m.v<sup>-1</sup>), novamente priorizando o menor consumo possível de reagentes.

Com a otimização do sistema, todas as demais determinações foram realizadas utilizando os parâmetros apresentados na Tabela 7, uma vez que as espécies são primeiramente reduzidas a nitrito para geração da molécula de NO, a qual pode ser determinada de maneira quantitativa.

**Tabela 7** - Variáveis otimizadas para a determinação de nitrito através do vapor de NO.

<b>Variável</b>	<b>Valor</b>
<b>Linha selecionada</b>	214.803 nm
<b>Temperatura da cela de quartzo</b>	600° C
<b>Vazão do sistema CVG</b>	8,0 mL.min <sup>-1</sup>
<b>Vazão de argônio</b>	6 L.H <sup>-1</sup>
<b>Concentração de HCl</b>	3,0 mol.L <sup>-1</sup>
<b>Concentração de Ácido Ascórbico</b>	3,5% (m.v <sup>-1</sup> )

Fonte: Do autor

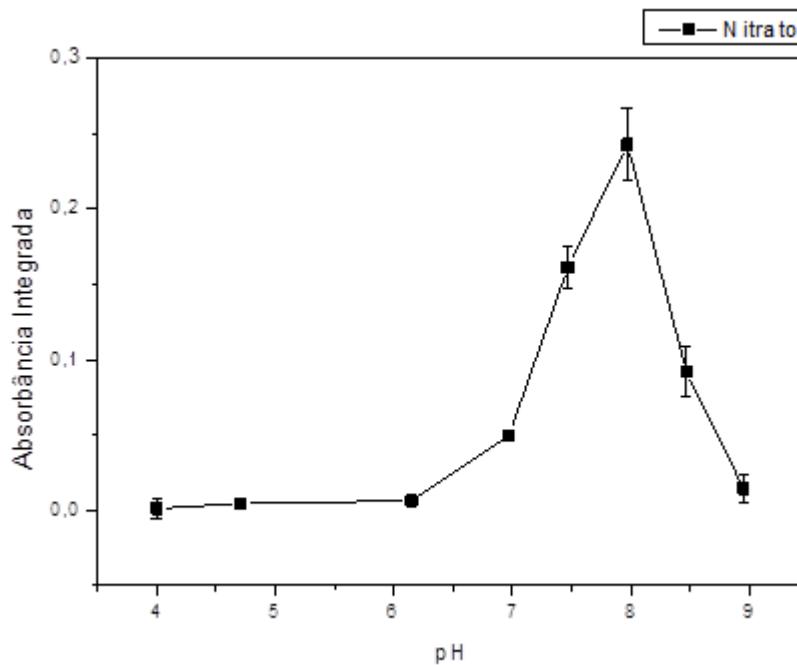
## 5.2 Otimização do sistema UV/CVG-CS MAS para determinação de nitrato

Tendo realizado os testes de otimização para a determinação de nitrito, o sistema foi empregado para a determinação de nitrato. Assim, a necessidade de redução de nitrato à nitrito foi verificada, uma vez que o sistema não gera NO a partir de nitrato. Dessa forma, diferentes processos de redução foram estudados. Os principais parâmetros relacionados à fotolítica redução foram avaliados, dentre eles a presença de tampão amônio/EDTA - previamente avaliado por Tucker e Egan<sup>3</sup> - o pH do meio, a variação da concentração de EDTA e a concentração de cloreto de amônio no tampão.

### 5.2.1 pH do meio amoniacal (Fotorredução)

O pH do meio amoniacal utilizado na redução do nitrato a nitrito foi estudado no intervalo de 4,0 a 9,0, com a adição de ácido clorídrico 37% (v.v<sup>-1</sup>) e hidróxido de sódio 15,0 mol.L<sup>-1</sup>. Assim, pode-se avaliar a redução do íon nitrato nos diferentes valores de pH, conforme sua interação com os íons H<sup>+</sup> e OH<sup>-</sup>, na presença de radiação UV (254 nm). Os resultados podem ser visualizados na Figura 18.

**Figura 18** - Valores de absorvância integrada obtidos com o aumento do pH no meio amoniacal. A concentração de EDTA no meio reacional permaneceu em  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  e a  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$  do meio foi de  $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ . A amostra permaneceu durante 20 segundos sob irradiação UV. As medidas foram realizadas com  $[\text{NO}_3^-] = 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  e o sistema otimizado da Tabela 7.



**Fonte:** Do autor.

Os menores sinais de absorvância foram obtidos nos pHs mais baixos (ácidos) e mais altos (alcalinos). Em pHs mais alcalinos (maiores que 9), o meio amoniacal libera uma grande quantidade de gás amônia ( $\text{NH}_3$ ). Esse excesso de gás deixa o sistema muito turbulento, diminuindo a eficiência do transporte do vapor de NO para a cela de quartzo, aumentando, assim, o desvio padrão relativo das medidas. Já em pHs mais ácidos (menores que 4), a incidência da luz UV favorece a formação do ácido peroxinitroso, que se isomeriza rapidamente à  $\text{NO}_3^-$  (reações 7 e 8), que não é determinado pelo sistema, uma vez que não forma a molécula de NO <sup>42</sup>.



**Fonte:** MACK, 1999 <sup>42</sup>.

Quando o meio encontra-se em pH levemente alcalino (7,5 e 8,0), as moléculas de ácido peroxinitroso (HONOO) são desprotonadas, levando à formação do peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ). Acredita-se que o peroxinitrito não influencia na determinação do nitrito, pois a irradiação alcalina desse íon tem como produto o nitrito e oxigênio, como observado na sequência de reações 11 a 14.

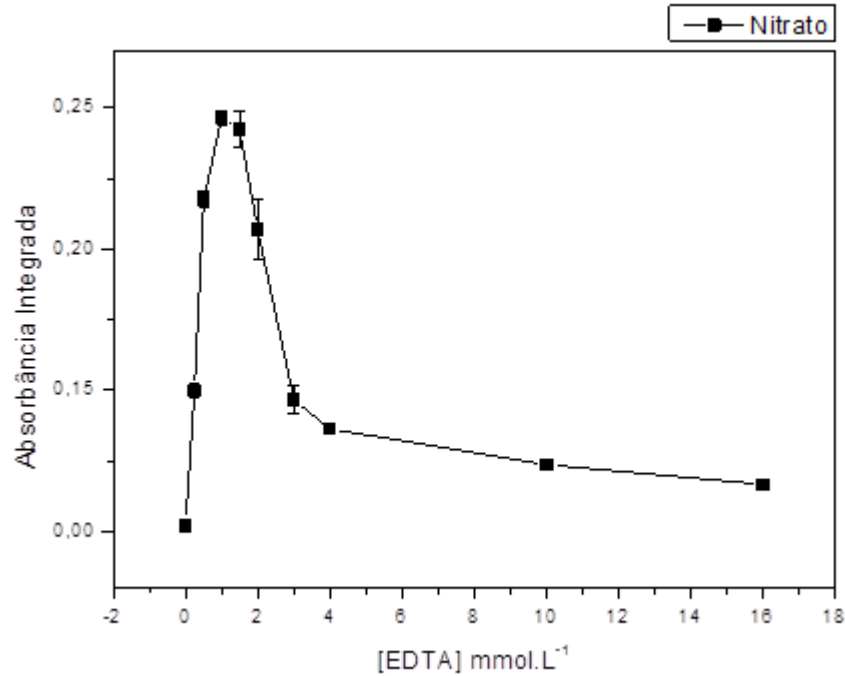


Fonte: MACK, 1999<sup>42</sup>.

### 5.2.2 Variação da concentração de EDTA

Amostras contendo nitrito e nitrato apresentam, muitas vezes, alguns cátions como potássio e o sódio, sendo, na maioria das vezes, contraíons dos mesmos. Tais contraíons (cátions) podem influenciar na determinação. Assim uma das funções do EDTA é complexar esses íons, amenizando possíveis fontes de interferência<sup>12, 43</sup>. Foram estudados diferentes concentrações de EDTA, no intervalo de 0,0 a 16,0 mmol.L<sup>-1</sup> nas soluções contendo nitrato, conforme mostra a Figura 19.

**Figura 19** - Valores de absorvância integrada obtidos com o aumento da concentração de EDTA (em  $\text{mmol.L}^{-1}$ ). A concentração de  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$  do tampão, em pH 8,0, foi de  $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ . A amostra permaneceu durante 20 segundos sob irradiação UV. As medidas foram realizadas com  $[\text{NO}_3^-] = 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  e o sistema otimizado da Tabela 7.



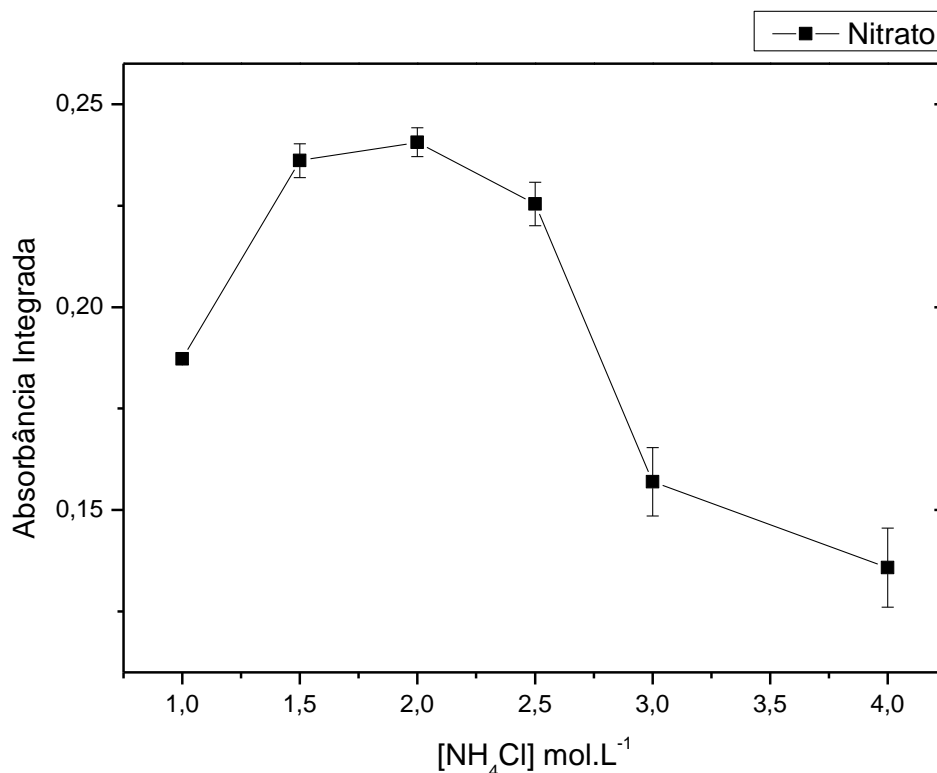
**Fonte:** Do autor.

Os valores de absorvâncias integradas para as concentrações de  $1,0$  e  $1,5 \text{ mmol.L}^{-1}$  são estatisticamente iguais, levando em consideração o desvio padrão associado, possivelmente, devido a uma maior eficiência na eliminação de interferentes. Contudo, a concentração escolhida foi a de  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ , por ter o menor desvio padrão relativo além, de proporcionar um menor consumo de reagentes.

### 5.2.3 Variação da concentração de cloreto de amônio (Tampão)

A concentração de cloreto de amônio no tampão influencia no controle do pH do processo de fotorredução, devendo assim, ser avaliada. A variação da massa de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  indica qual a melhor faixa tamponante para o reagente escolhido (Figura 20)

**Figura 20** - Valores de absorvância integrada obtidos com o aumento da concentração de cloreto de amônio (em mol.L<sup>-1</sup>) no tampão. A concentração de EDTA foi de 1,0 mmol.L<sup>-1</sup>, em pH 8,0. A amostra permaneceu durante 20 segundos sob irradiação UV. As medidas foram realizadas com [NO<sub>3</sub><sup>-</sup>] = 1,0 mg.L<sup>-1</sup> e o sistema otimizado da Tabela 7.



**Fonte:** Do autor.

Podemos observar na Figura 20, que em concentrações menores que 1,5 mol.L<sup>-1</sup>, a quantidade de cloreto de amônio não é suficiente para manter a capacidade tamponante do meio, fazendo que o mesmo varie mais facilmente e o íon nitrato se converta, facilmente, em ácido peroxinitroso (HONOO), como comentado no capítulo 5.2.1 (reações 7 e 8). Já em quantidades mais elevadas, a formação de gases no sistema se mostrou excessiva, o que prejudicou o transporte do vapor de NO a cela de atomização, deixando o sistema mais turbulento.

A concentração escolhida de cloreto de amônio para o tampão foi de 2,0 mol.L<sup>-1</sup>, levando-se em consideração as futuras diluições das amostras no meio tamponante, que reduziria a concentração do tampão para 1,5 mol.L<sup>-1</sup>. Na faixa de 1,5 a 2,0 mol.L<sup>-1</sup>, a capacidade tamponante não é prejudicada, tendo em vista os valores de absorvância integrada (Figura 20), levando-se em consideração o desvio padrão das leituras.

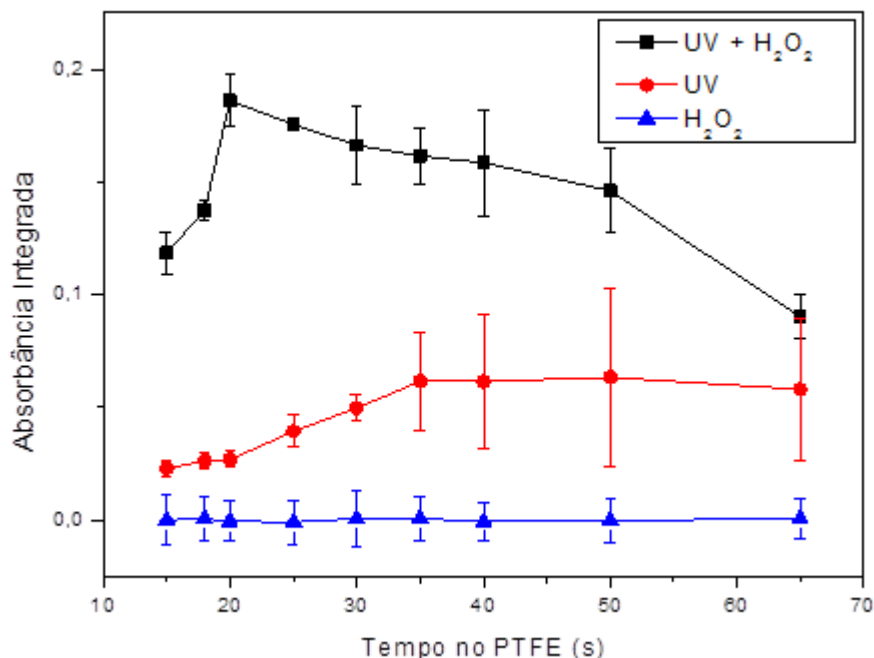
### 5.3 Otimização do sistema UV/CVG-CS MAS para determinação de PNP

Para a determinação de PNP o sistema fotolítico possibilitou um segundo processo, a foto-oxidação do analito e, conseqüentemente, a quebra da ligação C-N na estrutura, levando à liberação de nitrito no meio reacional. Alguns fatores foram otimizados para a determinação de PNP empregando o sistema UV/CVG-CS MAS, como o tempo de exposição à luz UV, o pH do meio, e a concentração de peróxido de hidrogênio.

#### 5.3.1 *Variação do tempo de exposição à luz UV*

Os tempos de exposição à radiação UV (254 nm) foram variados de acordo com o comprimento do tubo de PTFE que se encontrava dentro do reator. No estudo, manteve-se o pH do meio em 8,0 e utilizou-se uma concentração de 1,0 mmol.L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Também foram estudadas situações como a ausência de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no meio ou a ausência de luz UV, mantendo-se todos os outros parâmetros fixos, para comprovar a eficiência da quebra da ligação C-N na estrutura do PNP por meio da combinação de ambos os fatores. Foi cronometrado o tempo de entrada e de saída da caixa, sob radiação, em cada uma das seguintes situações, como mostra a Figura 21.

**Figura 21** - Valores de absorbância integrada obtidos para  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de PNP, com a variação do tempo de exposição do PNP à luz UV, de 15 segundos à 65 segundos. O pH do meio foi mantido próximo a 8,0 - com o auxílio de  $\text{NaOH } 15,0 \text{ mol.L}^{-1}$  - e a concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi de  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ . Foram aplicados nessa etapa, todos os outros fatores otimizados na análise de nitrito, conforme descritos na tabela 7.



Fonte: Do autor.

O tempo de exposição que apresentou o melhor sinal de absorbância, relacionado, possivelmente, à maior “degradação” de PNP, com a liberação de nitrito, foi de 20 segundos. Tempos menores de exposição geraram, possivelmente, menores quantidades de radicais hidroxilas, resultando em menor eficiência na quebra da ligação C-N nas moléculas de PNP. Tempos superiores a 20 segundos resultaram em menor eficiência do processo, possivelmente, devido à oxidação do nitrito liberado como produto à nitrato, que não é determinado pelo sistema.

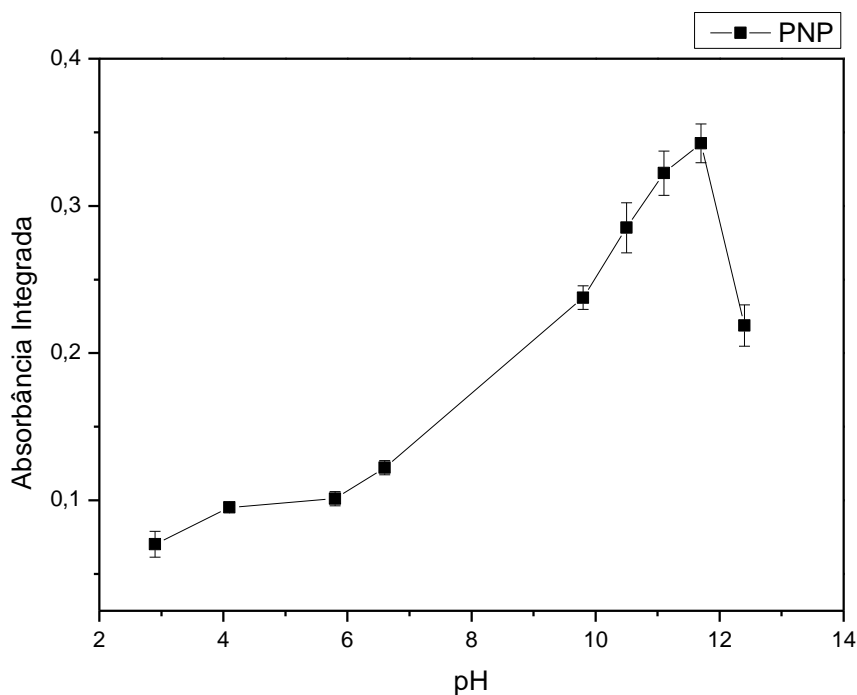
Na ausência de peróxido de hidrogênio (apenas UV), observou-se um sinal crescente à partir de 25 segundos, se estabilizando aos 35 segundos. Esse comportamento é observado, possivelmente, devido ao pH do meio reacional, no qual os radicais hidroxilas, provenientes da água ou do  $\text{NaOH}$ , empregado no ajuste do pH, podem ser responsáveis pela degradação do PNP, auxiliando no processo fotolítico. Já na ausência de radiação UV, não obteve-se sinal de absorbância, demonstrando assim que apenas o peróxido de hidrogênio não é suficiente para a degradação de PNP. O tempo de exposição escolhido para o sistema foi de 20 segundos.

### 5.3.2 Variação do pH no sistema

Assim como para a determinação de nitrato, o pH do meio reacional para a degradação do PNP foi estudado, afim de avaliar o comportamento do íon nitrito, liberado no processo, em excesso de  $H^+$  e excesso de  $OH^-$ , uma vez que tais variações podem influenciar o processo fotolítico. O pH foi ajustado com solução de HCl 37% ( $v.v^{-1}$ ) e NaOH 15,0  $mol.L^{-1}$  em água deionizada ultrapura.

De acordo com o observado na Figura 22, valores de pH mais ácidos e próximos da neutralidade produzem menores valores de absorbâncias, possivelmente devido ao nitrito, liberado como produto de degradação, reduzir à nitrato, devido a formação de ácido peroxinitroso (HONOO) sob radiação UV (reações 7 e 8, seção 5.2.1). Como dito anteriormente, ácido peroxinitroso não é determinado pelo sistema, pois se isomeriza em pHs ácidos à nitrato.

**Figura 22** - Absorbância integrada obtidos para 0,5  $mg.L^{-1}$  de PNP com a variação do pH no meio reacional. O tempo de exposição à luz UV nessa etapa foi de 20 segundos. Todos os outros parâmetros anteriores foram mantidos fixos, como a  $[H_2O_2]$  e os parâmetros da tabela 7, para a determinação de NO.



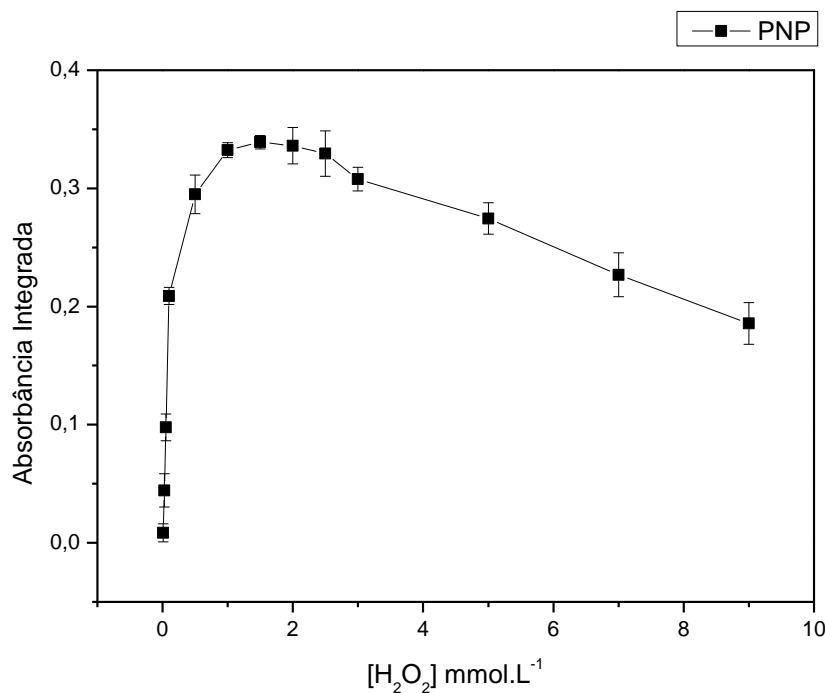
Fonte: Do autor.

Maiores valores de pH (maiores que 9) observa-se uma maior eficiência do processo fotolítico (quebra da ligação C-N na molécula de PNP) devido a maior quantidade de íons OH<sup>-</sup>. Valores maiores que 12 resultam em uma piora nas medidas de absorbância, devido possivelmente a turbulência no sistema pela formação excessiva, de moléculas gasosas associadas. Assim, o pH escolhido para as determinações de PNP foi 11,8.

### *5.3.3 Variação da concentração de peróxido de hidrogênio*

O peróxido de hidrogênio, juntamente à exposição à luz UV, são responsáveis pela liberação de uma maior quantidade de radicais hidroxilas, os quais promovem a degradação do composto orgânico. Tendo isso em vista, a variação da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se mostra de grande importância, para que se conheça qual a quantidade necessária para uma maior intensidade de degradação quantitativa. Variou-se a concentração de 0,0 a 9,0 mmol.L<sup>-1</sup>, como mostra a Figura 23. Pode-se observar uma queda visível da absorbância à partir de 1,7 mmol.L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Possivelmente essa queda está relacionada à oxidação do nitrito liberado na degradação (formação do NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) do PNP.

**Figura 23** - Valores de absorvância integrada obtidos para  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de PNP com a variação da  $[\text{H}_2\text{O}_2]$  no meio reacional de  $0,0$  a  $9,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ . O pH do meio foi mantido em  $11,8$  e o tempo de exposição à luz UV foi de  $20$  segundos. Todos os parâmetros da tabela 7 foram mantidos fixos.



**Fonte:** Do autor.

Em concentrações menores que  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ , a quantidade de peróxido não é suficiente para iniciar, de maneira satisfatória, o processo quebra da ligação C-N na estrutura do PNP (degradação do PNP), apresentando então, baixos valores de absorvância integrada. O valor escolhido, tendo em vista tais fatores, foi de  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  de peróxido de hidrogênio, priorizando o menor consumo de reagentes.

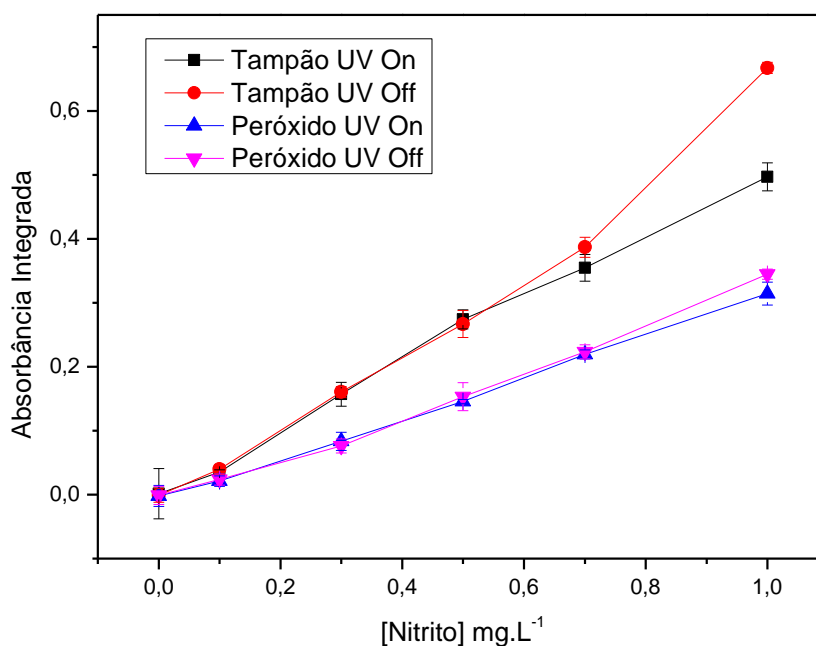
#### **5.4 Determinação dos compostos de nitrogênio isolados empregando o sistema UV/CVG-CS MAS**

Otimizados os sistemas para a determinação de cada composto nitrogenado (analito), os mesmos foram empregados para a especificação de tais compostos.

### 5.4.1 Determinação de nitrito

Afim de avaliar o comportamento de cada analito nos diferentes meios de especiação, foram realizados estudos, na presença e na ausência de luz UV, para cada um dos analitos (nitrito, nitrato e PNP) empregando o sistema UV/CVG-CS MAS otimizado. A Figura 24 ilustra o comportamento do nitrito nos diferentes meios para a especiação (tampão amônio/EDTA e peróxido de hidrogênio), ambos com e sem a incidência de radiação UV.

**Figura 24** - Comportamento do nitrito nos meios reacionais em que se é determinado. Em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$   $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$  e  $[\text{EDTA}]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 – com e sem a irradiação UV por 20 segundos – e em  $[\text{H}_2\text{O}_2]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 11,8 – com e sem irradiação UV por 20 segundos.

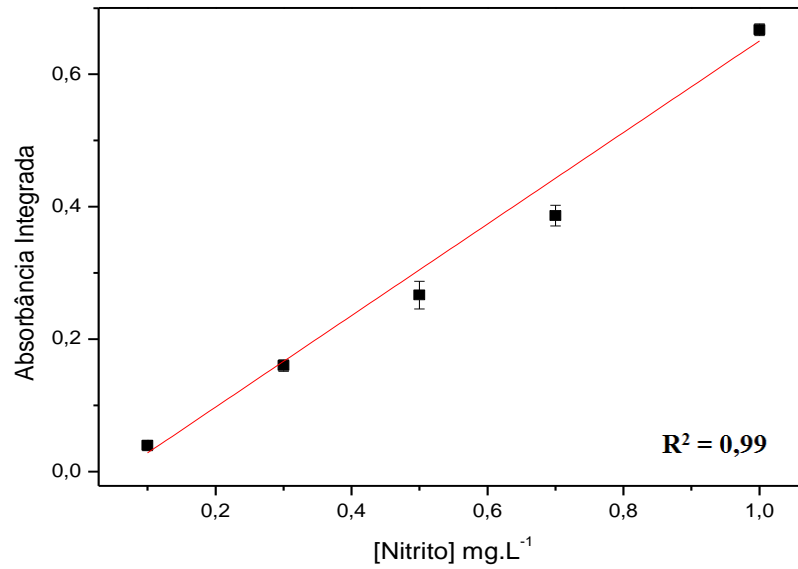


Fonte: Do autor.

Na presença de peróxido de hidrogênio em pH 11,8, as curvas analíticas possuem um menor coeficiente angular (0,36063 contra 0,69115 em tampão/EDTA) independente do emprego da fotólise, possivelmente devido a presença de um forte agente oxidante que converte parte do nitrito em nitrato. A incidência ou não de luz UV nesta etapa não fez com que os resultados de absorvância variassem entre si.

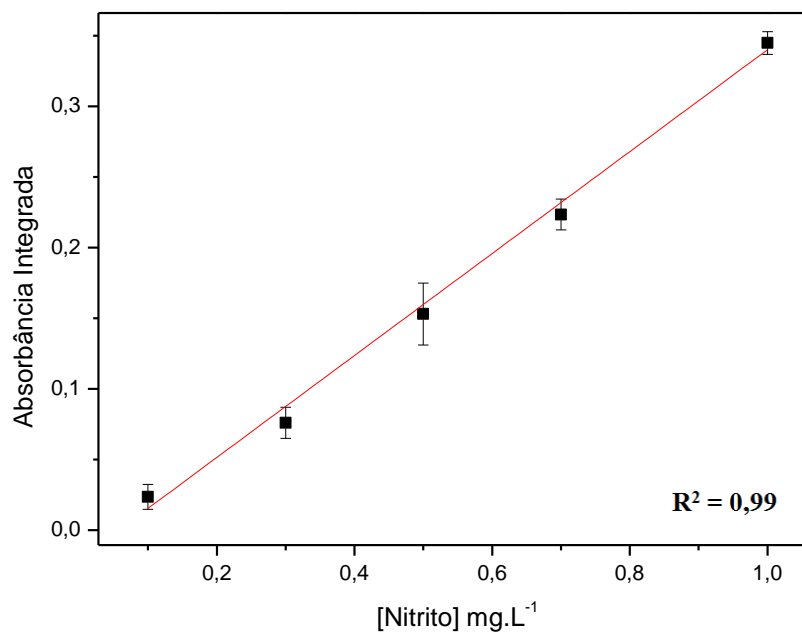
Abaixo, nas Figuras 25 e 26, encontram-se as curvas de calibração, para nitrito nas diferentes condições para a especiação (tampão amônio/EDTA e  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) sem a irradiação de luz UV.

**Figura 25** - Curva de calibração para o nitrito em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$   $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$  e  $[\text{EDTA}]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 e sem a irradiação de luz UV empregando as condições otimizadas (Tabela 7).



Fonte: Do autor.

**Figura 26** - Curva de calibração para o nitrito em  $[\text{H}_2\text{O}_2]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 11,8 e sem a irradiação de luz UV empregando as condições otimizadas (Tabela 7).

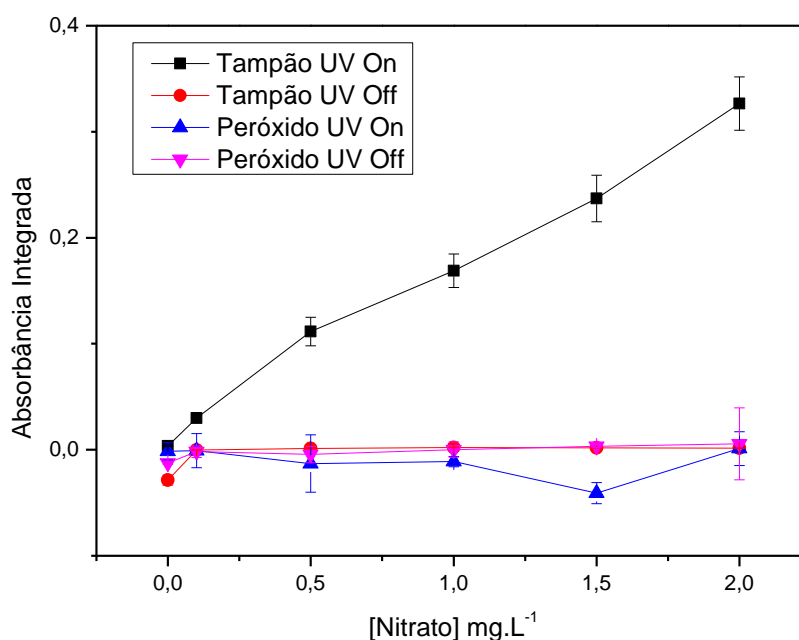


Fonte: Do autor.

#### 5.4.2 Determinação de nitrato

A determinação de nitrato, em relação ao nitrito, se dá, unicamente, na presença ou não ausência da radiação UV em tampão e EDTA. Nessas condições, o nitrato apresenta sinal de absorbância mensurável. Assim, a especiação é possível na presença de tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$   $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$  e  $[\text{EDTA}]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 com a irradiação por 20 segundos de luz UV, como mostra a Figura 27:

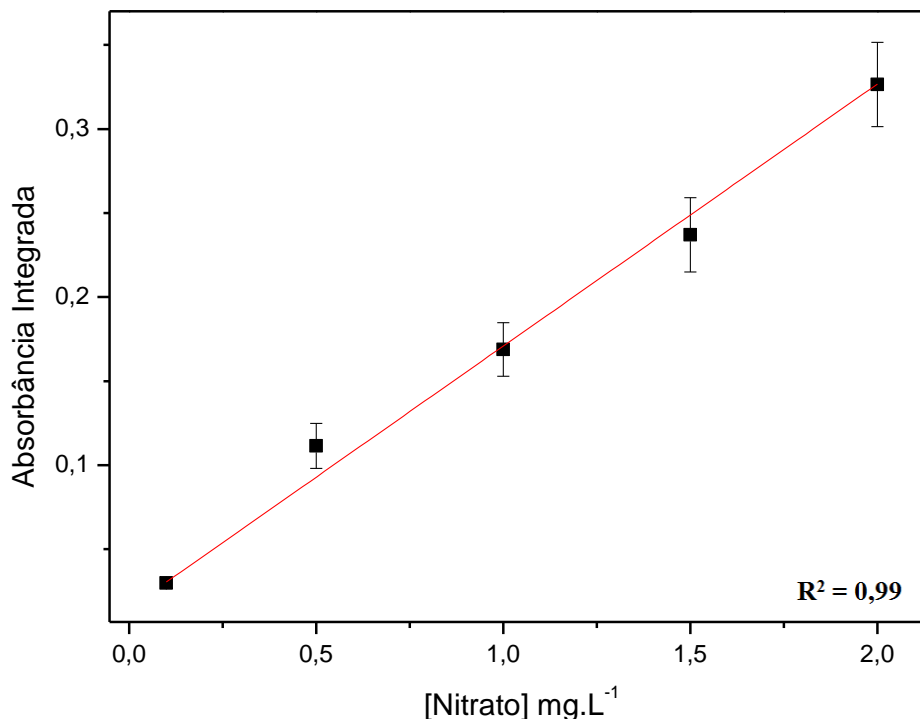
**Figura 27** - Comportamento do nitrato em diferentes meios reacionais. Em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$   $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ ,  $[\text{EDTA}]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 – com e sem a irradiação UV por 20 segundos – e em  $[\text{H}_2\text{O}_2]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 11,8 – com e sem irradiação UV por 20 segundos.



Fonte: Do autor.

O emprego de tampão amônia e EDTA com a incidência de luz UV possibilitou a fotorredução de nitrato, sendo essa a única condição em que o nitrato é reduzido a nitrito dentro das condições estudadas, demonstrando a fundamental importância da radiação ultravioleta no processo. Com o emprego de peróxido de hidrogênio, o meio reacional se torna oxidante, não favorecendo a conversão à nitrito e, logo, não possibilitando a especiação. Segue abaixo a curva de calibração do nitrato nas condições de determinação (Figura 28):

**Figura 28** - Curva de calibração para nitrato em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$   $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ ,  $[\text{EDTA}]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 e com a irradiação de luz UV por 20 segundos, empregando as condições otimizadas (Tabela 7).



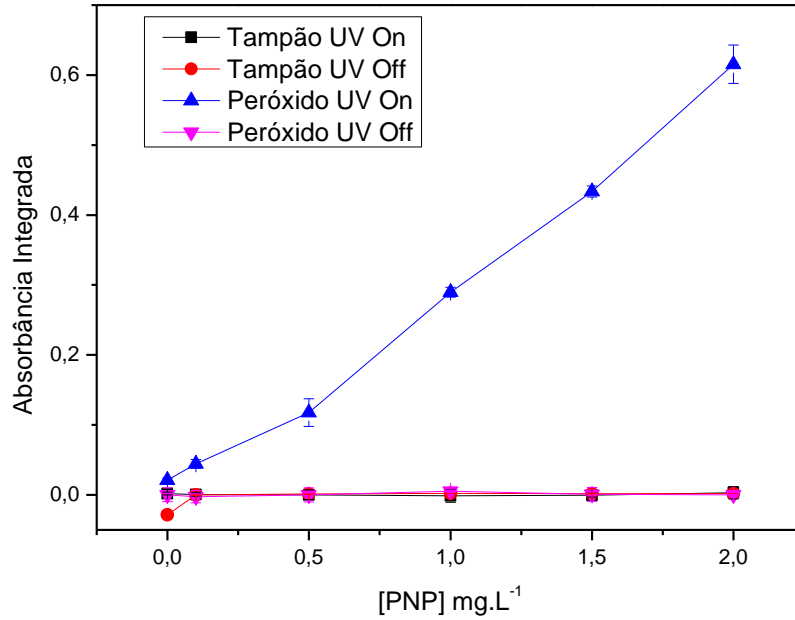
Fonte: Do autor.

#### 5.4.3 Determinação de *p*-nitrofenol (PNP)

Semelhante ao que foi feito com o nitrito e nitrato, o comportamento do PNP foi analisado nos diferentes meios em que a especiação é realizada (Figura 29).

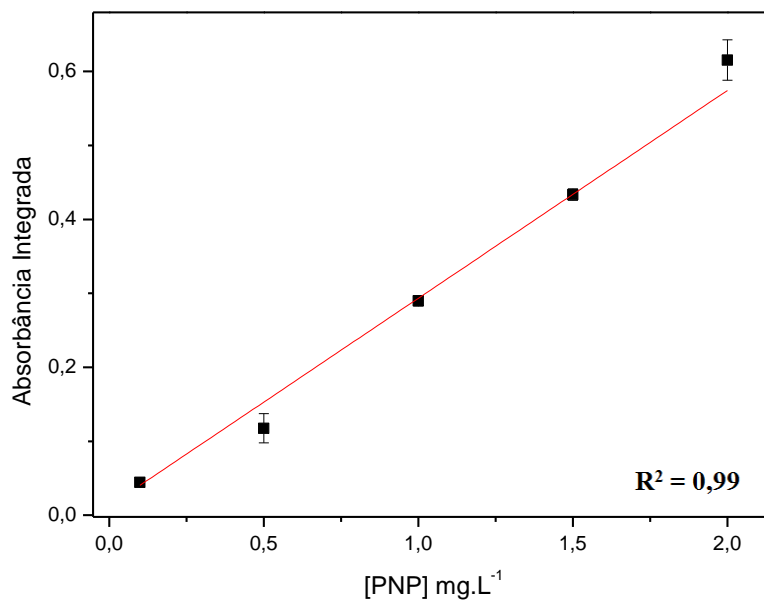
Semelhante ao nitrato, que apresentou uma única condição ideal para a determinação seletiva, a única condição favorável à quebra da ligação C-N, causando a saída do grupo nitro do PNP e detecção do nitrito gerado foi em  $[\text{H}_2\text{O}_2]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  com pH 11,8 e irradiação UV por 20 segundos. Todos os outros meios testados não registraram sinal de absorbância para a molécula de PNP, pois a ausência do conjunto  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{UV}$  não possibilita a determinação do mesmo, uma vez que não ocorreu a saída do grupo nitro da estrutura molecular e formação do nitrito. Segue, abaixo, a curva de calibração realizada nessas condições (Figura 30).

**Figura 29** - Comportamento do PNP em diferentes meios reacionais. Em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$   $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$  e  $[\text{EDTA}]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 – com e sem a irradiação UV por 20 segundos – e em  $[\text{H}_2\text{O}_2]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 11,8 – com e sem irradiação UV por 20 segundos.



Fonte: Do autor.

**Figura 30** - Curva de calibração para o PNP em  $[\text{H}_2\text{O}_2]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  no pH 11,8 e irradiação UV por 20 segundos, empregando as condições otimizadas (Tabela 7).



Fonte: Do autor.

Realizadas as calibrações nas condições ótimas de determinação de cada analito, foi possível, então, o cálculo dos resultados dos parâmetros de desempenho, segundo a tabela abaixo (Tabela 8), visando a determinação seletiva de cada analito.

**Tabela 8** - Parâmetros de desempenho das diferentes condições aplicadas para a determinação dos compostos nitrogenados abaixo citados.

<b>Analito</b>	<b>Coefficiente Angular (a)</b>	<b>Coefficiente Linear (b)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>LOD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>LOQ (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Nitrito (Tampão)</b>	0,69115	-0,04070	0,9903	0,047	0,16
<b>Nitrito (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)</b>	0,36063	-0,02560	0,9953	0,12	0,39
<b>Nitrato</b>	0,15593	0,01487	0,9904	0,090	0,30
<b>PNP</b>	0,28101	0,01231	0,9957	0,034	0,11

Fonte: Do autor

## 5.5 Especificação de compostos de nitrogênio empregando o sistema UV/CVG-CS MAS

Os estudos realizados nessa seção compreendem a determinação de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> para cada analito separado, permutados dois a dois - contendo 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de cada analito - e os três juntos na mesma amostra, também, com a concentração de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> para cada analito. Os meios testados foram os mesmos da seção anterior, ou seja, em tampão amônio/EDTA em pH 7,97 e em [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] 1,0 mmol.L<sup>-1</sup> em pH 11,8, ambas com e sem a incidência de luz UV. Os resultados obtidos estão resumidos nas Tabelas 9, 10, 11 e 12.

Observa-se, na Tabela 9 que apenas o nitrito apresentou absorvância em tampão amônio/EDTA sem incidência de radiação UV, mesmo na presença dos outros analitos. Isso ocorre, pois, sem a incidência da luz UV, nitrato e PNP não são detectáveis empregando o sistema proposto e, também, não interferem no sinal de nitrito.

**Tabela 9** - Valores de absorvância integrada, desvio padrão e desvio padrão relativo encontrados para os diferentes analitos em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$   $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ ,  $[\text{EDTA}]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 sem a irradiação UV. Para o estudo  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$  dos analitos foram empregados.

<b>Analito</b>	<b>Absorvância</b>	<b>SD</b>	<b>RSD (%)</b>
<b>Nitrito</b>	0,26672	0,02101	7,9
<b>Nitrato</b>	0,00124	0,00013	10,8
<b>PNP</b>	0,00278	0,00842	#
<b>Nitrito+Nitrato</b>	0,27744	0,00920	3,3
<b>Nitrito+PNP</b>	0,25410	0,00991	3,9
<b>Nitrato+PNP</b>	-0,00090	0,02957	#
<b>Nitrito+Nitrato+PNP</b>	0,25887	0,01674	6,5

Os valores que apresentaram desvio padrão relativo maior que 100% não foram registrados na tabela (#).

Fonte: Do autor

Observa-se na Tabela 10 que com a irradiação de luz UV em tampão/EDTA, tanto o nitrito quando o nitrato apresentam medidas de absorvância. Quando adicionados, conjuntamente na mesma amostra, a absorvância dos dois analitos é a soma das absorvâncias. Assim, ao subtrair o valor determinado de nitrito é possível determinar a concentração de nitrato (especificação redox). Outra observação interessante é a baixa, ou nenhuma, absorvância do PNP, não interferindo na determinação seletiva de nitrito e nitrato.

**Tabela 10** - Valores de absorvância integrada, desvio padrão e desvio padrão relativo encontrados para os diferentes analitos no meio de tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$   $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$  e  $[\text{EDTA}]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 com a irradiação UV por 20 segundos. Para o estudo  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$  dos analitos foram empregados.

<b>Analito</b>	<b>Absorvância</b>	<b>SD</b>	<b>RSD (%)</b>
<b>Nitrito</b>	0,27414	0,01480	5,4
<b>Nitrato</b>	0,11155	0,01339	12,0
<b>PNP</b>	0,00214	0,00345	#
<b>Nitrito+Nitrato</b>	0,37214	0,02084	5,6
<b>Nitrito+PNP</b>	0,27407	0,00630	2,3
<b>Nitrato+PNP</b>	0,11352	0,01805	15,9
<b>Nitrito+Nitrato+PNP</b>	0,34773	0,02330	6,7

Os valores que apresentaram desvio padrão relativo maior que 100% não foram registrados na tabela (#).

Fonte: Do autor

De acordo com a Tabela 11, na presença de peróxido de hidrogênio em pH 11,8 sem a irradiação UV apenas a absorbância de nitrito é registrada, embora menos acentuada, devido à ação oxidativa do meio.

**Tabela 11** - Valores de absorbância integrada, desvio padrão e desvio padrão relativo encontrados para os diferentes analitos no meio de [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] 1,0 mmol.L<sup>-1</sup> em pH 11,8 e sem a irradiação de luz UV. Para o estudo 0,5 mg.L<sup>-1</sup> dos analitos foram empregados.

<b>Analito</b>	<b>Absorbância</b>	<b>SD</b>	<b>RSD (%)</b>
<b>Nitrito</b>	0,15303	0,02197	14,4
<b>Nitrato</b>	-0,00442	0,00782	#
<b>PNP</b>	0,00002	0,01001	#
<b>Nitrito+Nitrato</b>	0,20146	0,02090	10,4
<b>Nitrito+PNP</b>	0,17102	0,01523	8,9
<b>Nitrato+PNP</b>	0,00695	0,0695	99,9
<b>Nitrito+Nitrato+PNP</b>	0,17439	0,01428	8,2

Os valores que apresentaram desvio padrão relativo maior que 100% não foram registrados na tabela (#).

**Fonte:** Do autor

Já na presença de radiação UV em meio de peróxido de hidrogênio, apenas o nitrato não é quantificado, sendo determinado assim, o nitrito - com sinal reduzido - e o PNP, devido à ação oxidativa e liberação do grupo nitro, conforme ilustrado na Tabela 12. Assim como realizado para a determinação de nitrato, o processo de subtração da concentração de nitrito, possibilitou a determinação de PNP, ou seja, a especiação química.

Com os resultados obtidos nas Tabelas 9 a 12, podemos associar qual condição é favorável à determinação da espécie química do composto nitrogenado de interesse. Tais condições estão resumidas na Tabela 13.

**Tabela 12** - Valores de absorvância integrada, desvio padrão e desvio padrão relativo encontrados para os diferentes analitos no meio de [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] 1,0 mmol.L<sup>-1</sup> em pH 11,8 e com a irradiação de luz UV por 20 segundos.

<b>Analito</b>	<b>Absorbância</b>	<b>SD</b>	<b>RSD (%)</b>
<b>Nitrito</b>	0,14571	0,00284	2,0
<b>Nitrato</b>	-0,01297	0,02707	#
<b>PNP</b>	0,11759	0,01974	16,8
<b>Nitrito+Nitrato</b>	0,16374	0,02303	14,1
<b>Nitrito+PNP</b>	0,32669	0,01881	5,8
<b>Nitrato+PNP</b>	0,10602	0,00509	4,8
<b>Nitrito+Nitrato+PNP</b>	0,33281	0,00569	1,7

Os valores que apresentaram desvio padrão relativo maior que 100% não foram registrados na tabela (#).

Fonte: Do autor

**Tabela 13** - Resumo das condições mais favoráveis para a determinação de cada analito (especiação química).

<b>Espécie</b>	<b>(1) Tampão</b>	<b>(2) Tampão</b>	<b>(3) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>(4) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>
<b>Química</b>	<b>UV On</b>	<b>UV Off</b>	<b>UV On</b>	<b>UV Off</b>
<b>Nitrito</b>	●	●	●	●
<b>Nitrato</b>	●	X	X	X
<b>PNP</b>	X	X	●	X

●: Determinado.

X: Não determinado.

Fonte: Do autor

O íon nitrito é determinado sob qualquer uma das quatro condições. Como o nitrato é determinado apenas sob a condição (1), quando na presença de nitrito na mesma amostra, a especiação é realizada por meio da subtração da concentração de nitrito e nitrato, encontrada na condição (1), da concentração de nitrito, encontrada na condição (2). De maneira semelhante, é realizada a determinação do PNP. A concentração total de nitrito e PNP, encontrada na situação (3) é subtraída da concentração de nitrito que foi determinado sob a condição (4).

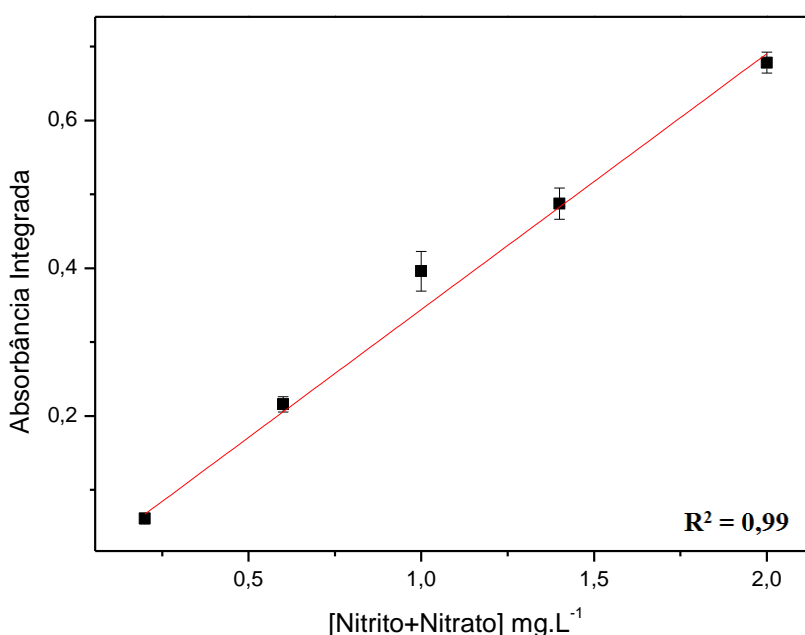
Com o método de especiação desenvolvido e avaliado em solução aquosa, o mesmo foi empregado em amostras reais (águas naturais e alimentos) visando a verificação de sua aplicabilidade.

## 5.6 Especificação de nitrito, nitrato e PNP nas amostras

Devido ao alto teor de matéria orgânica nas águas de conserva dos alimentos, quando processados pelo sistema, obteve-se grande formação de bolhas, o que acarretou sérios problemas. O separador gás-líquido do módulo HS60A (CVG) se mostrou inadequado para a separação, encaminhando bolhas para a cela de quartzo. Assim, as análises das águas de conserva não puderam ser realizadas de forma direta. Procedeu-se, então, a análise dos alimentos sólidos e das águas naturais, assim como os testes de adição e recuperação dos mesmos.

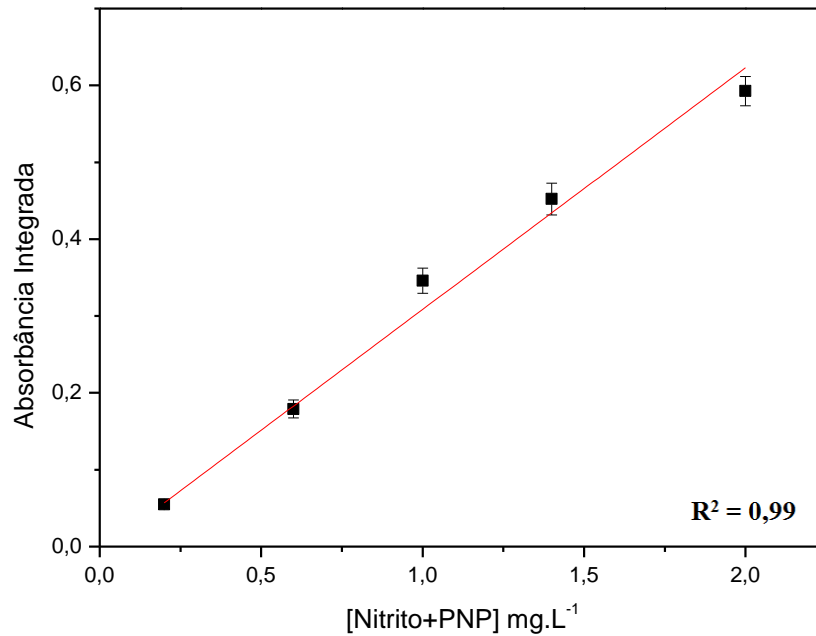
Para isso, duas curvas de calibração foram construídas, nitrito e nitrato em tampão amônio/EDTA com irradiação UV (Figura 31) e nitrito e PNP em peróxido de hidrogênio com irradiação UV (Figura 32), sendo necessárias para o cálculo da concentração dos analitos somados. Foram adicionadas concentrações iguais de cada analito, aparecendo somadas no eixo das abscissas. As curvas contendo apenas nitrito, que serão utilizadas na subtração da concentração total de nitrito quantificado nas curvas das Figuras 31 e 32, se encontram na seção 5.4.1, correspondendo às Figuras 25 e 26.

**Figura 31** - Curva de calibração de nitrito e nitrato em tampão amônio  $[\text{NH}_4\text{Cl}]$   $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$  e  $[\text{EDTA}]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 7,97 e com a irradiação de luz UV por 20 segundos.



Fonte: Do autor.

**Figura 32** - Curva de calibração de nitrito e PNP em  $[H_2O_2]$   $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  em pH 11,8 e com a irradiação de luz UV por 20 segundos.



**Fonte:** Do autor.

Realizadas as curvas de calibração nas condições ótimas de determinação dos analitos na mesma amostra foi possível, então, o cálculo dos resultados dos parâmetros de desempenho (Tabela 14):

**Tabela 14** - Parâmetros de desempenho das diferentes condições aplicadas para a determinação dos compostos nitrogenados abaixo citados empregando o sistema proposto.

Analito	Coefficiente	Coefficiente	$R^2$	LOD ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	LOQ ( $\text{mg.L}^{-1}$ )
	Angular (a)	Linear (b)			
Nitrito+Nitrato	0,34627	-0,00206	0,9953	0,071	0,24
Nitrito+PNP	0,31434	-0,00583	0,9901	0,075	0,25

**Fonte:** Do autor

Para todas as análises realizadas nos alimentos sólidos, depois do preparo de amostras, não foram encontrados valores significativos dos analitos de interesse nas amostras extraídas, por estarem abaixo do limite de detecção do método. Com isso, seguiu-se para os testes de adição e recuperação.

## 5.7 Testes de adição e recuperação

Os testes de adição e recuperação, foram realizados com  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$  de cada analito, como descrito na seção 4.5. As recuperações se encontram dentro da faixa de 80,4% a 134,8%, como pode-se observar na Tabela 15, demonstrando um resultado satisfatório para a avaliação da exatidão do método. A precisão foi avaliada de acordo com os desvios padrões relativos referentes a cada leitura, encontrando-se dentro do aceitável para o método proposto.

**Tabela 15** - Concentração em  $\text{mg.L}^{-1}$  encontradas nos testes de adição e recuperação de  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$  de cada analito nos alimentos enlatados sólidos após a extração sólido-líquido.

<b>Amostra</b>	<b>Nitrito (<math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</b>	<b>Nitrato (<math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</b>	<b>PNP (<math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</b>	<b>Recuperação <math>\text{NO}_2^-</math> (%)</b>	<b>Recuperação <math>\text{NO}_3^-</math> (%)</b>	<b>Recuperação PNP (%)</b>
<b>Salsicha</b>	$0,412 \pm 0,090$	$0,674 \pm 0,030$	$0,447 \pm 0,034$	82,4	134,8	89,4
<b>Milho 1</b>	$0,442 \pm 0,086$	$0,494 \pm 0,034$	$0,518 \pm 0,022$	88,4	98,8	103,6
<b>Milho 2</b>	$0,435 \pm 0,077$	$0,436 \pm 0,031$	$0,527 \pm 0,041$	87,0	87,2	105,4
<b>Ervilha 1</b>	$0,451 \pm 0,073$	$0,498 \pm 0,039$	$0,402 \pm 0,048$	90,2	99,6	80,4
<b>Ervilha 2</b>	$0,466 \pm 0,077$	$0,512 \pm 0,047$	$0,475 \pm 0,054$	93,2	102,4	95,0
<b>Água 1</b>	$0,420 \pm 0,076$	$0,446 \pm 0,037$	$0,443 \pm 0,053$	84,0	89,2	88,6
<b>Água 2</b>	$0,488 \pm 0,075$	$0,573 \pm 0,027$	$0,487 \pm 0,054$	97,6	114,6	97,4

Fonte: Do autor

Na amostra de salsicha, podemos observar uma diferença significativa da quantidade de nitrito recuperado ( $0,412 \text{ mg.L}^{-1}$ ) para a quantidade de nitrato ( $0,674 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Possivelmente, os componentes presentes na amostra favoreceram a oxidação do nitrito à nitrato, explicando os resultados obtidos. O mesmo fato acontece na amostra de água de

Mariana (Água 1), em que a quantidade de nitrito recuperada foi relativamente baixa (0,420 mg.L<sup>-1</sup>).

## 6 CONCLUSÃO

O método proposto nesse trabalho se mostrou eficiente para a especiação de compostos nitrogenados inorgânicos, no caso do nitrito e do nitrato, e também da molécula orgânica de *p*-nitrofenol, empregando as condições otimizadas nas amostras selecionadas para o estudo, sem a necessidade de hifenação de técnicas cromatográficas.

Em todas as condições, foram criadas possibilidades da formação de nitrito, visando a formação de vapor de NO, para que assim a técnica HR-CS MAS fosse utilizada, com sucesso, na determinação dos analitos de interesse. Como a técnica citada acima é relativamente recente em termos de determinação de ametais, o trabalho se torna interessante e inovador, possibilitando novas abordagens, tendo em vista as qualidades do mesmo, como a seletividade e a sensibilidade adquirida por meio do emprego da geração do vapor químico e a pré-concentração na cela de quartzo.

Tanto a redução do nitrato a nitrito como a oxidação do PNP foram realizados empregando a fotólise (irradiação UV) - visando a fotorredução ou a foto-oxidação - apenas variando o meio reacional e utilizando métodos alternativos, os quais possibilitam uma menor contaminação do meio ambiente devido a não formação de resíduos tóxicos, demonstrando ainda assim, resultados satisfatórios.

As análises em alimentos foram realizadas com sucesso, tendo em vista os resultados dos testes de adição e recuperação, com exceção das águas de conserva. O método se mostra promissor para a especiação química de compostos nitrogenados e futuras análises em uma maior variedade de amostras de alimentos, realizando-se um preparo de amostras adequado.

## REFERÊNCIAS

1. MICHALSKI, R.; KURZYCA, I. Determination of Nitrogen Species (Nitrate, Nitrite and Ammonia Ions) in Environmental Samples by Ion Chromatography. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 15, n. 1, p. 5-18, 2006.
2. BRANDAO, G. C.; LIMA, D. C.; FERREIRA, S. L. C. The chemical generation of NO for the determination of nitrite by high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry. **Talanta**, v. 98, p. 231-235, 2012.
3. UNITED STATES PATENT APPLICATION PUBLICATION. Tucker, S. A.; Egan, L. M. Loveland, CO (US). **Determination of nitrate/nitrite concentration in water by photochemical reduction**. Pub. No.: US2011/0212533 A1. 2011.
4. HAGHIGHI, B.; TAVASSOLI, A. Flow-injection analysis of nitrate by reduction to nitrite and gas-phase molecular absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 371, p. 1113-1118, 2001.
5. NASCIMENTO, T. S. DO; PEREIRA, R. O. L.; MELLO, H. L. D. DE; COSTA, J. Metemoglobinemia: do diagnóstico ao tratamento. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Campinas, v. 58, n. 6, 2008.
6. OLIVEIRA, M. J. DE; ARAÚJO, W. M. C.; BORGIO, L. A. Quantificação de nitrato e nitrito em liguiças do tipo frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 736-742, 2005.
7. BRANDAO, G. C.; MATOS, G. D.; PEREIRA, R. N.; FERREIRA, S. L. C. Development of a simple method for determination of nitrite and nitrate in groundwater by high-resolution continuum source electrothermal molecular absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 806, p. 101-106, 2013.
8. PAJECKI, D. **Estudo da redução de nitrato e da produção de compostos N-nitrosos na luz esofágica, mediadas por bactérias, em pacientes portadores de megaesôfago não avançado**. 2005. 87 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
9. DATTA, C.; NAIDU, R.; YENKIE, M. K. N. Photo-oxidative degradation of synthetic organic pollutant *p*-nitrophenol. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 63, p. 518-521, 2004.
10. LAI, B.; ZHANG, Y.; CHEN, Z.; YANG, P.; ZHOU, Y.; WANG, J. Removal of *p*-nitrophenol (PNP) in aqueous solution by the micron-scale iron-copper (Fe/Cu) bimetallic particles. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 144, p. 816-830, 2013.
11. BAYSAL, A; AKMAN, S. A practical method for the determination of sulphur in coal samples by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 85, p 2662-266, 2011.

12. HUANG, M.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; OKRUSS, M.; WELZ, B.; FERREIRA, H. S. High-resolution continuum source molecular absorption spectrometry of nitrogen monoxide and its application for determination of nitrate. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, p. 163-168, 2010.
13. BORGES, D. L. G.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Fundamentos da Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua. **Revista Analytica**, n. 18, p. 58-67, 2005.
14. HUANG, M.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; OKRUSS. Direct determination of total sulphur in wine using a continuum-source atomic-absorption spectrometer and air-acetylene flame. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, p. 1877-1881, 2005.
15. RESANO, M.; FLÓREZ, M. R.; GARCÍA-RUIZ, E. Progress in the determination of metalloids and non-metals by means of high-resolution continuum source atomic or molecular absorption spectrometry. A critical review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, issue 9-10, p. 2239-2259, 2013.
16. BRASIL. Resolução CONAMA n° 369, de 3 de abril de 2008. **Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional**. Publicado no D.O.U. de 30 julho 1986.
17. RATH, S.; CANAES, L. S. Contaminação de produtos de higiene e cosméticos por n-nitrosaminas. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2159-2168, 2009.
18. BANDURA, D. R.; BARANOV V. I.; TANNER S. D. Reaction chemistry and collisional processes in multipole devices for resolving isobaric interferences in ICP-MS. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 370, p. 454-470, 2001.
19. JIANG, P.; ZHOU, J.; ZHANG, A.; ZHONG, Y. Electrochemical degradation of *p*-nitrophenol with different processes. **Journal of Environmental Sciences**, v. 22, p. 500-506, 2009.
20. BÜCKER, S.; ACKER, J. Spectrometric analysis of process etching solutions of the photovoltaic industry – Determination of HNO<sub>3</sub>, HF and H<sub>2</sub>SiF<sub>6</sub> using high-resolution continuum source absorption spectrometry of diatomic molecules and atoms. **Talanta**, v. 94, p. 335-341, 2012.
21. BORIES, P. N.; SCHERMAN, E.; DZIEDZIC, L. Analysis of Nitrite and Nitrate in Biological Fluids by Capillary Electrophoresis. **Clinical Biochemistry**, v. 32, n. 1, p. 9-14, 1999.
22. HORITA, K.; WANG, G. F.; SATAKE, M. Column pre-concentration analysis-spectrophotometric determination of nitrate and nitrite by a diazotation-coupling reaction. **Analyst**, v. 122, p. 1569-1574, 1997.
23. LOOKABAUGH, M.; KRULL, I. S. Determination of Nitrite and Nitrate by reversed-phase high-performance liquid chromatography using on-line post-column photolysis with ultraviolet absorbance and electrochemical detection. **Journal of Chromatography**, v. 452, p. 295-308, 1988.

24. GUERRERO, R. S.; BENITO, C. G.; CALATAYUD, J. M. Flow-injection analysis-spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in water samples by reaction with proflavin. **Talanta**, v. 43, p. 239-246, 1996.
25. ABBAS, M. N.; MOSTAFA, G. A. Determination of traces of nitrite and nitrate in water by solid phase spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 410, p. 185-192, 2000.
26. AL-ZAMIL, I. Z.; TOWNSHEND, A. Molecular emission cavity analysis: Part 23. Determination of Nitrite and Nitrate after Conversion to Nitrogen Monoxide. **Analytica Chimica Acta**, v. 142, p. 151, 1982.
27. OKEMGBO, A. A.; HILL, H. H.; SIEMS, W. F.; METCALF, S. G. Reverse Polarity Capillary Zone Electrophoretic Analysis of Nitrate and Nitrite in Natural Water Samples. **Analytical Chemistry**, v. 71, p. 2725-2731, 1999.
28. JANINI, G. M.; CHAN, K. C.; MUSCHIK, G. M.; ISSAQ, H. J. Analysis of nitrate and nitrite in water and urine by capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography B**, v. 657, p. 419-423, 1994.
29. PASQUALI, C. E. L.; GALLEGU-PICÓ, A.; HERNANDO, P. F.; VELASCO, M.; ALEGRIA, J. S. D. Two rapid and sensitive automated methods for the determination of nitrite and nitrate in soil samples. **Microchemical Journal**, v. 94, i. 1, p. 79-82, 2010.
30. MOORECROFT, M. J.; DAVIS, J.; COMPTON, R. G. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. **Talanta**, v. 54, p. 785-803, 2001.
31. SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, R. S. **Fundamentos de química analítica**. Tradução da 8a. ed. Norte-Americana. São Paulo: Thomson Learning LTDA, 2006.
32. HEITMANN, U.; SCHÜTZ, M.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; Measurements on the Zeeman-splitting of analytical lines by means of a continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometer with a linear charge coupled device array. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 51, p. 1095-1105, 1996.
33. LEPRI, F. G. **Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua como Ferramenta Analítica para o Desenvolvimento de Método para Determinação de Níquel e Vanádio por Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite em Amostras de Óleo Cru**. 2005. 72 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2005.
34. WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; VALE, M. G. R. High-Resolution Continuum-source Atomic Absorption Spectrometry – What Can We Expect? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 220-229, 2003.
35. SHEN, Y.; ZHENG, C.; JIANG, X.; WU, X.; HOU, X. Integration of hydride generation and photochemical vapor generation for multi-element analysis of traditional Chinese medicine by ICP-OES. **Microchemical Journal**, v. 123, p. 164-169, 2015.

36. GAO, Y.; STURGEON R. E.; MESTER, Z.; PAGLIANO, E.; GALEA, R.; SAULL, P.; HOU, X.; YANG, L. On-line UV photochemical generation of volatile copper species and its analytical application. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 344-349, 2016.
37. ZHENG, C.; MA, Q.; WU, L.; HOU, X.; STURGEON, R. E. UV photochemical vapor generation-atomic fluorescence spectrometric determination of conventional hydride generation elements. **Microchemical Journal**, v. 95, p. 32-37, 2010.
38. SIU, D. C.; HERSHALL, A. Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in meat products. **Journal of Chromatography A**, v. 804, p. 157-160, 1998.
39. HSU, J.; ARCOT, J.; LEE, A. Nitrate and Nitrite quantification from cured meat and vegetables and their estimated dietary intake in Australians. **Food Chemistry**, v. 115, p. 334-339, 2009.
40. WANG, Q.; MA, S.; HUANG, H.; CAO, A.; LI, M.; HE, L. Highly sensitive and selective spectrofluorimetric determination of nitrite in food products with a novel fluorogenic probe. **Food Control**, v. 63, p. 117-121, 2016.
41. KALAYCIOGLU, Z.; ERIM, F. B. Simultaneous Determination of Nitrate and Nitrite in Fish Products with Improved Sensitivity by Sample Stacking-Capillary Electrophoresis. **Food Analytical Methods**, v. 9, p. 706-711, 2016.
42. MACK, J.; BOLTON, J. R.; Photochemistry of nitrite and nitrate in aqueous solution: a review. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, n. 128, p. 1-13, 1999.
43. SINGH, P. K.; SINGH, A. K.; GUPTA, S. Optimization of nitrate reduction by EDTA catalysed zero-valent bimetallic nanoparticles in aqueous medium. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, p. 3914-3924, 2012.