

**GERAÇÃO ELETROQUÍMICA DO HIDRETO DE SELÊNIO EM SISTEMA DE INJEÇÃO EM FLUXO COM DETECÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA AR-GLP**

Luís Fernando Rebel Machado

Instituto de Química de São Carlos (IQSC/USP)

Antonio Octavio Jacintho e Maria Fernanda Giné

Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) - CP 96 - 13400-970 - Piracicaba - SP

Recebido em 29/9/98; aceito em 5/4/99

**ELECTROCHEMICAL HYDRIDE GENERATION FOR SELENIUM DETERMINATION IN A FLOW INJECTION SYSTEM WITH AIR-GLP FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRIC DETECTION.** This paper presents a system for electrochemical hydride generation using flow-injection and atomic absorption spectrometry to determine selenium in biological materials. The electrolytic cell was constructed by assembling two reservoirs, one for the sample and the other for the electrolytic solution separated by a Nafion membrane. Each compartment had a Pt electrode. The sample and electrolyte flow-rates, acidic media, and applied current were adjusted to attain the best analytical performance and ensure the membrane lifetime. The atomisation system used a T quartz tube in an air-LPG flame. The composition of the flame, the observation height, and the argon flow rate used to carry the hydrides were critically investigated. The system allowed to perform thirty determinations per hour with a detection limit of  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  of Se. Relative standard deviations were in general lower than 1.5% for a solution containing 20.0 and  $34.0 \mu\text{g L}^{-1}$  of Se in a typical sample digest. Accuracy was assessed analysing the certified materials: rice flour (NIST-1568) from National Institute of Standard and Technology and dried fish (MA-A-2), whole animal blood (A-2/1974) from the International Atomic Energy Agency.

**Keywords:** electrochemical hydride generation; selenium in biological material; air-LPG flame.

**INTRODUÇÃO**

Nos últimos anos, o aumento da demanda para determinações de selênio em diferentes matrizes, vem despertando o interesse para o desenvolvimento de novos métodos<sup>1</sup>. Compostos binários de hidrogênio com alguns elementos são conhecidos como hidretos e são caracterizados por apresentar-se em estado gasoso à temperatura ambiente<sup>2</sup>. Dentre estes, temos os de As, Bi, Sb, Se, Sn, Pb, Ge e Te. Esta característica dos hidretos possibilita a sua separação das respectivas matrizes, usando um simples separador de fases líquido/gás, e a minimização de possíveis interferências químicas e/ou espectrais<sup>3</sup>. Além disto, promove-se maior eficiência na introdução das espécies no atomizador e, quando estas ficam confinadas em uma cela de atomização, ocorre a pré-concentração, conseguindo-se aumento significativo na sensibilidade<sup>4</sup>. Desta forma, a técnica de geração de hidretos (GH) tem se constituído num dos recursos mais utilizados para determinação de baixas concentrações de As e Se em diferentes amostras<sup>1,5</sup>.

A produção dos hidretos em dispositivos acoplados aos espectrômetros atômicos tem sido efetuada pela redução com  $\text{NaBH}_4$  em meio ácido<sup>5</sup>, entretanto esta técnica apresenta algumas desvantagens. Este reagente pode introduzir contaminantes e em solução aquosa é instável tendo que ser preparado diariamente. Lin e colaboradores<sup>6</sup> apresentaram um sistema de geração eletroquímica de hidretos em fluxo (FIA) acoplado ao espectrômetro de absorção atômica usando cela aquecida por resistividade. Os autores mostraram a viabilidade do sistema alternativo para determinação de As, Se e Sb em fluidos biológicos. Posteriormente, o sistema de geração eletroquímico de hidretos tem sido acoplado à espectrometria de emissão atômica com plasma<sup>7,8</sup> e absorção atômica com forno de grafite<sup>9,10</sup>. Estes autores usaram na câmara eletrolítica a membrana Nafion para separação do anodo e catodo e ácido sulfúrico em diferentes concentrações como solução eletrolítica. As modificações

introduzidas ficaram por conta do formato da câmara (retangular<sup>6,7,9,10</sup> e circular<sup>8</sup>) e do material dos eletrodos empregados (platina<sup>6,7,8</sup>, chumbo<sup>6,9,10</sup>, carbono vítreo<sup>6</sup>). A geração do hidreto de selênio com sistema eletroquímico, compreende segundo Ding e Sturgeon<sup>11</sup>, em pelo menos três eventos sequenciais; redução e deposição do analito na superfície do catodo (sítios específicos na superfície ativada), reação do analito depositado com o hidrogênio nascente ( $\text{H}^*$ ) gerado na superfície do catodo, e subsequente desorção do hidreto do analito.

No presente trabalho foi desenvolvido um sistema em fluxo contínuo acoplado ao gerador eletroquímico de hidreto visando a determinação de Se em amostras biológicas por espectrometria de absorção atômica com atomização em tubo de quartzo aquecido por chama ar-GLP. Este método de geração de hidretos não utiliza redutores químicos, o que diminui riscos de contaminação na solução da amostra, é menos susceptível à ação de outros íons e se constitui em mais uma alternativa eficaz para a determinação de espécies químicas que formam hidretos.

**PARTE EXPERIMENTAL****Equipamentos e Acessórios**

O sistema em fluxo foi montado com uma bomba peristáltica (Ismatec, mp 13 GJ-4) usando-se 8 canais de bombeamento com tubos de Tygon de diferentes diâmetros, injetor comutador proporcional, conectores tipo Y feitos em acrílico e tubo de polietileno de 0,8 mm d.i. A câmara eletrolítica foi construída conforme desenho mostrado na Figura 1. As peças da câmara foram confeccionadas em acrílico. As lâminas de Pt (Degusa) de 0,040 x 15 x 120 mm e a membrana Nafion<sup>®</sup> 117 (Aldrich) foram inseridas na montagem por sobreposição das placas. Os eletrodos de Pt foram conectados à fonte elétrica com corrente variável de 0 a 3000 mA e temporizador. A câmara de difusão gás-líquido usada

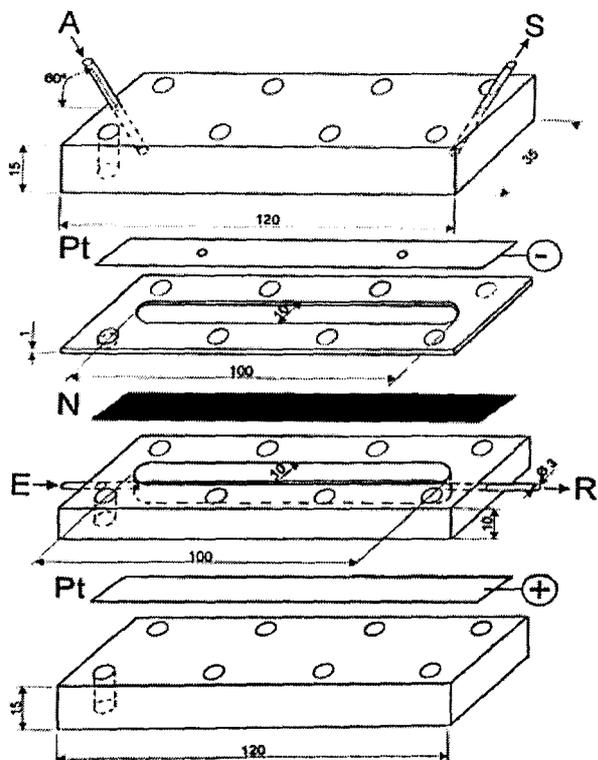


Figura 1. Esquema da câmara eletrolítica. Na parte superior as setas indicam a entrada da amostra A e saída para o sistema S, e na parte inferior a entrada do eletrólito E, e recirculação para o reservatório R. Mostra-se a colocação das lâminas de Pt com as conexões elétricas e da membrana Nafion N. As dimensões encontram-se indicadas em mm. Os círculos indicam os lugares de colocação dos parafusos.

foi semelhante à descrita em trabalhos anteriores<sup>12,13</sup>. Para atomização, usou-se tubo de quartzo em forma de "T" aberto nas extremidades<sup>14,15</sup>, colocado no suporte do queimador de três fendas do espectrômetro de absorção atômica (Perkin Elmer, 306) e lâmpada EDL energizada com fonte modular (EDL System 2). Para o registro dos sinais, foi empregado um registrador potenciométrico (Radiometer, REC-61). A solubilização das amostras foi feita em bloco digestor (Tecnal).

### Reagentes, Soluções e Amostras

Foram utilizados reagentes *pro analysi* e água purificada à 18,2 MΩ.cm em sistema Milli-Q (Millipore). O ácido sulfúrico utilizado foi *suprapur* (Merck), os ácidos clorídrico e nítrico *pro analysi* (Merck) foram purificados por destilação abaixo do ponto de ebulição em sistema sub-boiling (H. Kurner).

Soluções estoque (1000 mg L<sup>-1</sup>) de selenato e selenito foram preparadas a partir dos sais sódicos anidro e pentahidratado (Sigma), respectivamente. As soluções de trabalho de Se<sup>4+</sup> e Se<sup>6+</sup> na faixa de 0,10 a 3,0 mg L<sup>-1</sup> foram obtidas por diluição das soluções estoque em 0,5 mol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Soluções de Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> preparadas a partir dos metais ou óxidos (Johnson & Matthey Chemicals). As<sup>3+</sup> (Titrisol, Merck), H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Na<sup>+</sup> foram utilizadas nos testes de interferências.

Solução de borohidreto de sódio (Merck) a 3% m/v, preparada em meio de NaOH (Merck) 0,25 mol L<sup>-1</sup> e filtrada, foi usada no sistema de fluxo. Como eletrólito foi empregada solução 2,0 mol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Para redução do Se nas amostras, foi usado HCl 5,0 mol L<sup>-1</sup>.

Gás liquefeito de petróleo-GLP e Acetileno foram usados na composição de duas chamas distintas. Para arraste do hidreto formado, foi usado Argônio.

### Amostras

Foram analisadas amostras de peixe homogenizado (MA-A-2), sangue animal liofilizado (A-2/1974) certificados pela IAEA (*International Atomic Energy Agency*) e farinha de arroz SRM - 1568 certificada pelo NIST (*National Institute of Standard and Technology*). Estas amostras foram digeridas seguindo procedimentos descritos anteriormente<sup>16,17</sup>. Após o processo de digestão em temperatura ambiente, o Se<sup>6+</sup> foi reduzido a Se<sup>4+</sup> adicionando-se 1,0 mL de HCl 5,0 mol L<sup>-1</sup> e aquecendo-se a 95°C durante 20 min. Os volumes foram completados para 10 mL com 0,5 mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### Sistema de fluxo

O sistema de injeção em fluxo FIA - AAS proposto é mostrado na Figura 2. Nesse esquema, mostra-se o injetor I, a câmara eletrolítica CE, a fonte elétrica F e as conexões entre estas unidades, a câmara de difusão CD e o tubo T no percurso óptico do espectrômetro AAS. No injetor, representa-se a solução da amostra A sendo aspirada para encher a alça de amostragem L, enquanto a solução CA (0,5 mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) flui continuamente através do compartimento superior de CE e segue para a separação de fases em CD. Um fluxo constante de Ar passa do separador CD para o tubo de atomização T aquecido por chama ar-GLP. A solução eletrolítica circula continuamente pelo compartimento do anodo e a solução transportadora passa pelo compartimento do catodo, de modo que ao ligar a fonte F, inicia-se a eletrólise onde no catodo ocorre a redução eletroquímica do selênio e formação do hidreto, com abundante desprendimento de hidrogênio molecular. A solução do eletrólito recircula continuamente pelo anodo, de modo que ao ligar a fonte F, inicia-se a eletrólise, gerando os íons H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> que migram pela membrana Nafion<sup>®</sup> e produzem a redução das espécies que estão fluindo pelo compartimento do catodo. A fonte F permanece ligada continuamente. Quando desloca-se a parte central do injetor, no sentido mostrado pela seta, o volume de amostra em L é transportado pela solução CA para a câmara CE, onde ocorre redução e formação dos hidretos e outras espécies voláteis. Parte dos gases formados é separada por difusão em CD e transportada para o atomizador. A absorção atômica do Se é determinada a 196 nm.

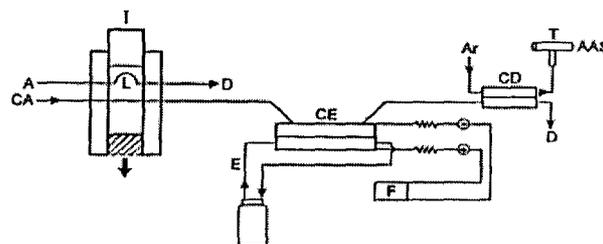


Figura 2. Diagrama de fluxos do sistema proposto para geração eletroquímica de hidreto de Se. Os símbolos são: I injetor, A amostra, CA carregador da amostra, L alça de amostragem, D descarte, CE câmara eletrolítica, E solução eletrolítica, F fonte de corrente contínua, CD câmara de difusão, Ar fluxo de argônio, T tubo de atomização e AAS espectrômetro de absorção atômica.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos empregando-se alça de amostragem de 400 cm de comprimento (2,0 mL), apresentaram máxima sensibilidade devido a mínima dispersão no sistema FIA. A vazão do gás de arraste dos hidretos para o AAS, que proporcionou uma melhor relação sinal ruído, foi a de 200 mL min<sup>-1</sup>. Aumentando-se esta vazão, aumenta-se a dispersão até o tubo

e, provavelmente, o espalhamento das espécies no interior dele, além do possível resfriamento do mesmo.

Quando se empregou a chama ar-acetileno nas proporções 6:5 e 4:5, com queimador de uma fenda, as altas temperaturas diminuíram a vida útil do tubo tornando-o opaco e quebradiço. Constatou-se que quanto maior a proporção de ar, maior o risco de extinção da chama, como consequência de seu deslocamento da base do queimador e quanto maior a proporção de acetileno, maior o depósito de carbono na superfície do tubo de atomização devido à combustão incompleta.

Considerando-se as dificuldades apresentadas, foi utilizada uma chama composta de ar-GLP, uma vez que a temperatura ideal para atomização do selênio é citada como sendo 850°C<sup>18,19</sup>. A chama ar-GLP foi produzida em queimador de três fendas, uma vez que, usando queimador de uma fenda, não se conseguiu estabilizar a chama.

A proporção ar-GLP na mistura ideal foi de 5:2. Um aumento desta proporção levou à produção de chama mais oxidante com aumento na temperatura, enquanto que na diminuição desta proporção, observaram-se depósitos de carbono na superfície do tubo.

Na geração eletroquímica de hidreto de selênio, para diferentes intensidades de corrente aplicadas na câmara CE, muda-se a faixa analítica como mostrado na Tabela 1. A corrente mais intensa testada foi de 3000mA, uma vez que, acima deste valor, houve grande desprendimento gasoso no compartimento da amostra, danificando a membrana. Os danos causados na membrana de troca iônica, Nafion, quando trabalhou-se sobre condições críticas de corrente (superiores a 3000mA), pode ter sido provocado, por reações químicas entre a membrana e substâncias eletroativas geradas no próprio processo eletroquímico.

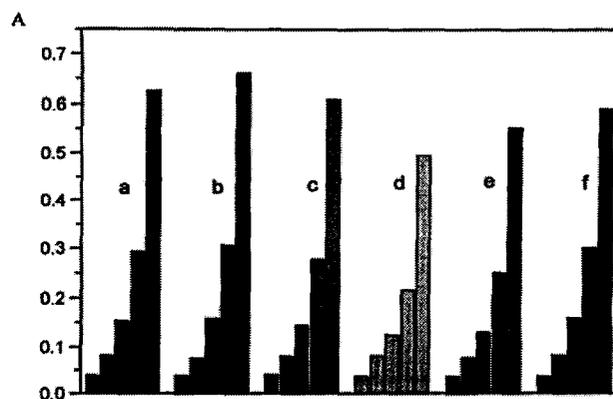
**Tabela 1.** Influência da intensidade de corrente nos valores de absorbância das soluções padrão de Se na faixa de concentração de 25 a 1000 µg L<sup>-1</sup>.

Corrente aplicada (mA)	Faixa de concentração do Selênio (µg L <sup>-1</sup> )	Sinal Analítico (A)	Coefficiente de correlação linear (R)
1000 mA	250	0,143	0,9956
	500	0,396	
	1000	0,843	
2000 mA	100	0,187	0,9988
	250	0,500	
	500	0,922	
3000 mA	25	0,060	0,9995
	50	0,109	
	100	0,234	
	250	0,550	

A produção de espécies voláteis é proporcional à acidez das soluções e à intensidade de corrente aplicada.

O efeito da acidez e tipo de ácido usado como meio das soluções dos padrões e no seu transporte pode ser observado na Figura 3. Os resultados obtidos com HNO<sub>3</sub> mais concentrado (1mol L<sup>-1</sup>) indicaram menor eficiência de redução. Lin e colaboradores<sup>6</sup>, observaram que o HCl, HClO<sub>4</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> não causaram significativa alteração na sensibilidade do método. Contudo, descreveram que esta foi drasticamente diminuída com o emprego de HNO<sub>3</sub>. No presente trabalho, empregou-se como carregador uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup> e como eletrólito H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2,0 mol L<sup>-1</sup>.

A vazão da solução da amostra pela câmara está relacionada com a eficiência da redução, devido ao aumento do tempo



**Figura 3.** Sinais da determinação de Se em soluções padrão contendo 0,00; 25,0; 50,0; 100 e 250µgSe L<sup>-1</sup>. Os conjuntos indicados por a, b e c foram obtidos com soluções em meio de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25; 0,50 e 1,00 mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os conjuntos d, e e f foram obtidos em meio de HNO<sub>3</sub> 1,00; 0,50 e 0,25 mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Em todos os casos aplicou-se 3000mA na câmara eletrolítica.

de residência. Entretanto, deve ser encontrada uma vazão de compromisso, porque ocorre um aquecimento das soluções quando diminui-se a vazão. Para uma intensidade de corrente fixa, o efeito de aquecimento pode ser causado pela diminuição da acidez ou da vazão na solução da amostra.

Nas condições de acidez usada (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>), a vazão de 2,5mL min<sup>-1</sup> apresentou os melhores resultados sem aquecimento das soluções mesmo usando 3000 mA.

Variações da vazão do eletrólito (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 mol L<sup>-1</sup>) entre 6,0 e 8,0 mL min<sup>-1</sup> provocaram aumento dos sinais quando aplicamos 2000 mA. Para vazões inferiores a 6,0 mL min<sup>-1</sup>, ocorre retenção de gases no compartimento do anodo, impedindo a migração dos íons pela membrana Nafion®. Vazão superior a 8,0 mL min<sup>-1</sup> diminui o tempo de residência dos íons que participam do processo de migração, comprometendo a sensibilidade analítica. Por até 60 horas, um volume de 1000 mL do eletrólito que foi reciclado continuamente, aplicando-se corrente de 2000mA, não afetou a eficiência de redução. Após esse tempo, os sinais analíticos apresentaram decréscimo progressivo de até 20%. Assim, recomenda-se a substituição do eletrólito após 60 horas de trabalho.

Os resultados referentes à avaliação do efeito de íons concomitantes com o Se e que foram adicionados nas concentrações em que normalmente estão presentes em matrizes biológicas são mostrados na Tabela 2. Pode ser observado que nas condições estudadas, apenas os íons Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, e As<sup>3+</sup> causaram interferência negativa no sinal do padrão contendo 100µg L<sup>-1</sup> de Se. Contudo, tais efeitos não foram considerados significativos para as amostras analisadas.

**Tabela 2.** Avaliação do efeito de diferentes íons adicionados em diferentes concentrações a 100µg L<sup>-1</sup> de Se.

Íons	Concentração íon adicionada (µg L <sup>-1</sup> )	Concentração Se (IV) encontrada (µg L <sup>-1</sup> )
Fe <sup>3+</sup>	5,0	92,7
Zn <sup>2+</sup>	5,0	100,0
Cu <sup>2+</sup>	10,0	94,1
Co <sup>2+</sup>	10,0	100,0
As <sup>3+</sup>	0,10	93,5
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	250	97,6
Ca <sup>2+</sup>	5,0	100,0
Na <sup>+</sup>	500	101,0

Os sinais FIA, gerados ao introduzir no sistema soluções padrão de Se em triplicata e uma sequência de 11 injeções da solução padrão mais concentrada, são apresentados na Figura 4. Os resultados foram obtidos usando-se os valores dos parâmetros escolhidos nas etapas anteriores.

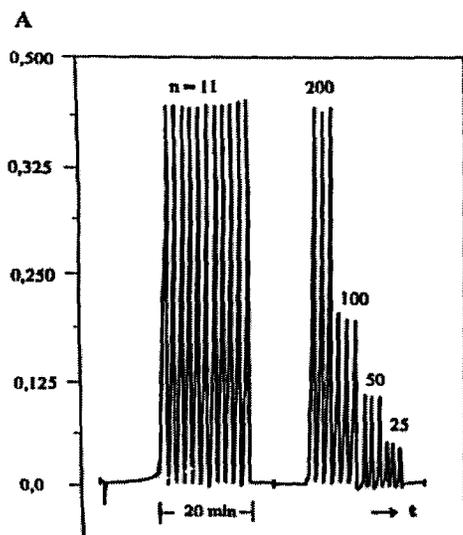


Figura 4. Diagrama da determinação de Se por AAS. Os sinais da esquerda para a direita correspondem as absorvâncias obtidas em triplicata para os padrões de Se (25,0; 50,0; 100 e 200  $\mu\text{g Se L}^{-1}$ ), seguidos de 11 repetições do padrão de 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

A sequência de onze sinais (Figura 4) apresentou desvio padrão relativo de 1,2%.

Os resultados obtidos na determinação do Se nas amostras certificadas são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados da determinação de Se em amostras certificadas (n=3).

Amostra	Valor certificado $\mu\text{g g}^{-1}$	Valor encontrado $\mu\text{g g}^{-1}$	Teste t
Peixe Homogenizado	$1,70 \pm 0,30$	$1,66 \pm 0,20$	1,73
Farinha de Arroz	$0,40 \pm 0,10$	$0,46 \pm 0,10$	2,25
Sangue Animal	$0,58 \pm 0,10$	$0,54 \pm 0,20$	4,33

Os resultados da Figura 4 foram obtidos sob condições de intensidade de corrente de 2000mA, volume de amostra de 2 mL, usando 2,5  $\mu\text{L min}^{-1}$  de solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5mol  $\text{L}^{-1}$

como carregadora, 8,0mL  $\text{min}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2,0mol  $\text{L}^{-1}$  como solução eletrolítica e 200 mL  $\text{min}^{-1}$  de Ar para introdução no tubo de atomização. A composição da chama de ar-GLP usada foi de 5:2. Com o sistema proposto, conseguiu-se frequência analítica de 30 determinações por hora. Os valores médios encontrados pelo procedimento proposto encontram-se na faixa dos valores certificados.

## CONCLUSÕES

O método, utilizando sistema de injeção em fluxo combinado com a técnica de geração eletroquímica de hidreto com detecção por espectrometria de absorção atômica, mostrou-se viável para determinação de selênio em material biológico.

A utilização da câmara eletrolítica foi considerada pouco suscetível à ação dos íons presentes nos materiais estudados.

O emprego da chama ar-GLP, como fonte de aquecimento para os sistemas de atomização existentes, pode ser sugerido como alternativa barata e segura para o processo.

## REFERÊNCIAS

- Haygarth, R. M.; Rowland, A. D.; Sturup, S.; Jones, K.C.; *Analyst* **1993**, *118*, 1303.
- Hurd, D. T.; *Chemistry of the Hydrides*; John Wiley & Sons Inc., New York, 1952, p 1, 5.
- Robbins, B. W.; Caruso, A. J.; *Anal. Chem.* **1979**, *51*, 889A.
- Holak, W.; *Anal. Chem.* **1969**, *41*, 1712.
- Bruhn, C. G. F.; *Curso Latino Americano de Espectroscopia Atômica Instrumental y Aplicada*, Universidad de Concepción, Chile, 1991.
- Lin, Y.; Wang, X.; Yuan, D.; Yang, P.; Huang, B.; Zhuang, Z.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1992**, *7*, 287.
- Brockmann, A.; Nonn, C.; Golloch, A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1993**, *8*, 397.
- Schickling, C.; Yang, J.; Broekaert, J. A. C.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1996**, *11*, 739.
- Ding, W. W.; Sturgeon, R. E.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1996**, *11*, 225.
- Ding, W. W.; Sturgeon, R. E.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1996**, *11*, 421.
- Ding, W. W.; Sturgeon, R. E.; *Spectrochim. Acta* **1996**, *B51*, 1325.
- Fang, Z.; *Flow Injection Separation and Preconcentration*, VHC, Weinheim, 1993.
- Ozaki, E. A.; *Dissertação de Mestrado*, Instituto de Química, USP, São Paulo, SP, 1990.
- Chu, R. C.; Barron, G. P.; Baumgarner, P. A. W.; *Anal. Chem.* **1972**, *44*, 1476.
- Thompson, K. C.; Thomerson, D. R.; *Analyst* **1974**, *99*, 595.
- Welz, B.; Melcher, M.; *Anal. Chim. Acta* **1984**, *165*, 131.
- Lan, W. G.; Wong, M. K.; Sin, Y. M.; *Talanta* **1994**, *41*, 195.
- Welz, B.; Melcher, M.; *Analyst* **1993**, *108*, 995.
- Verlinden, M.; Baart, J.; Deelstra, H.; *Talanta* **1980**, *27*, 633.