



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

NILVAN ALVES DA SILVA

**GERAÇÃO FOTOQUÍMICA DE VAPOR ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA PARA A DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM
ALIMENTOS PARA GATOS DE ESTIMAÇÃO**

FORTALEZA

2020

NILVAN ALVES DA SILVA

GERAÇÃO FOTOQUÍMICA DE VAPOR ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA PARA A DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM ALIMENTOS
PARA GATOS DE ESTIMAÇÃO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Prof. Dra. Gisele Simone Lopes

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S581g Silva, Nilvan Alves da.
Geração fotoquímica de vapor acoplada a espectrometria de absorção atômica para a determinação de Mercúrio em alimentos para gatos de estimação / Nilvan Alves da Silva. – 2020.
94 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2020.
Orientação: Prof. Dr. Gisele Simone Lopes.

1. Mercúrio. 2. Alimentos. 3. Animais. 4. Gatos de Estimação. 5. Geração Fotoquímica de Vapor. I. Título.
CDD 540

NILVAN ALVES DA SILVA

GERAÇÃO FOTOQUÍMICA DE VAPOR ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA PARA A DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM ALIMENTOS
PARA GATOS DE ESTIMAÇÃO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em: ___ / ___ / ____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Gisele Simone Lopes (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Elisane Longhinotti
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Livia Paulia Dias Ribeiro
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares.

À Profa. Gisele S. Lopes pela amizade, orientação, por ter me recebido tão bem em seu grupo de pesquisa e pela total disponibilidade nas horas de necessidade. Um muitíssimo obrigado.

À Profa. Livia Paulia e a Profa. Wladiana Matos pela amizade e o apoio.

À banca examinadora pelas importantes contribuições para o trabalho.

Agradeço aos membros do Laboratório de Estudos em Química Aplicada (LEQA): Eder, Fabia, Jane, Luan, Nandressa, Paulo, Pedro, Renato, Tamyris e Victor. Um agradecimento especial para a Nandressa, por sempre ter me ajudado nos experimentos durante o mestrado.

Aos meus amigos que estão comigo desde os tempos de graduação na UECE e que sempre me apoiaram: Andressa, Edilson, Junior, Natalia, Rebeca, Sávia e Valéria.

Ao Prof. Carlos Emanuel (UECE), por ter me apresentado os fascínios da química analítica durante a minha graduação e a Profa. Flávia Oliveira (UECE) por ter aberto os caminhos para a minha iniciação científica.

À Dra. Yin Gao da *Chegdu University* (China) e ao Dr. Ralph Sturgeon da *National Research Council of Canada* (NRC-Ottawa) por fornecer alguns instrumentos importantes para o projeto de pesquisa.

Ao laboratório de Análise de Traços (LAT) e o Laboratório de Análise de Água (LANAGUA) por disponibilizar parte da infraestrutura para a realização do trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química e à Universidade Federal do Ceará por toda a infraestrutura disponibilizada para o desenvolvimento do trabalho

Ao Luelc e a Amanda por terem me acolhido durante o mês que passei em Campinas para realização de experimentos.

Ao Prof. Jarbas J.R Rohwedder pela paciência e por ter me orientado durante o curto período em que passei no Grupo de Instrumentação e Automação em Química Analítica (GIA - Unicamp) em 2018.

Ao Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA) pelo suporte financeiro.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida durante o mestrado e pelo suporte financeiro no projeto Proc. CNPq No. 429780/2018-4.

“Não importa o quão ruim as coisas estão, algo de bom está lá fora, logo acima do horizonte”

Hal Jordan

RESUMO

O mercúrio (Hg) apresenta alta bioacumulação em peixes e frutos do mar. Como o peixe é um dos ingredientes principais em alimentos comerciais para animais de estimação, especificamente os gatos, o teor de Hg pode ser preocupante, apresentar risco toxicológico para o animal e, portanto, deve ser investigado. Neste trabalho, determinou-se a concentração de Mercúrio Total (HgT) em amostras de alimentos enlatados com ingredientes a base de atum e frutos do mar para gatos utilizando a Geração Fotoquímica de Vapor (PVG) acoplada a espectrometria de absorção atômica. Inicialmente, condições experimentais como a configuração do reator fotoquímico e separador gás-líquido (GLS), tipo e concentração de precursor orgânico para geração de radicais e fotoredução do Hg, tempo de irradiação UV da amostra e fluxo de gás carreador foram otimizadas para a determinação de HgT. Maior geração de espécies voláteis de Hg foi obtida por meio do reator de lâmpada UV de 19 W com percurso analítico interno de quartzo e utilizando um GLS produzido em laboratório e constituído por tubo de polipropileno. Uma maior eficiência na PVG foi alcançada com o uso de ácido fórmico a 10% v v⁻¹ como precursor orgânico, 4 segundos de irradiação UV na amostra e fluxo de gás carreador a 50 mL min⁻¹. A curva de calibração para o método apresentou coeficiente de correlação maior que 0,99. A exatidão foi confirmada utilizando materiais de referência certificados (DOLT-3 e DORM-1), com taxas de recuperação de 93-110%. A precisão apresentou desvio-padrão relativo menor do que 5%. Considerando as condições otimizadas, foi obtido um limite de detecção de 0,28 µg kg⁻¹. Aplicou-se o método para a determinação de HgT em 10 amostras de alimentos para gatos adquiridas em comércio local. A concentração nas amostras variou em uma faixa de 0,035 a 0,388 mg kg⁻¹ de HgT, e a maior concentração foi determinada em alimentos com ingrediente somente a base de atum. Apenas uma amostra apresentou concentração próxima ao limite estabelecido por agência reguladora. Por meio do cálculo da ingestão diária estimada (IDE), gatos consumiriam teoricamente 0,0021 a 0,0233 mg de HgT por dia e por kg de peso do animal, considerando os alimentos analisados. Sendo assim, nenhuma das amostras apresentou valor superior ao considerado tóxico para os gatos. Portanto, o método utilizado mostrou-se eficiente, simples e de baixo custo para a determinação de HgT em alimentos para gatos de estimação.

Palavras-chave: Mercúrio. Alimentos. Animais. Gatos de Estimação. Geração Fotoquímica de Vapor.

ABSTRACT

The Mercury (Hg) has high bioaccumulation in fish and seafood. As fish is one of the main ingredients in commercial pet foods, specifically cats, the Hg content can be worrisome, pose a toxicological risk to the animal and should therefore be investigated. In this work, Total Mercury (THg) concentration was determined in samples of canned food with ingredient based on tuna and seafood for cats using Photochemical Vapor Generation (PVG) coupled with atomic absorption spectrometry. Initially, experimental conditions such as photochemical reactor and gas-liquid separator (GLS) configuration, organic precursor type and concentration for radical generation and Hg photoreduction, UV irradiation time and carrier gas flow were optimized for THg determination. Higher generation of volatile Hg species was obtained through the 19W UV lamp reactor with internal quartz analytical path and using a laboratory produced GLS made of polypropylene tube. Higher PVG efficiency was achieved by using 10% v v⁻¹ formic acid as an organic precursor, 4 seconds of UV irradiation in the sample and carrier gas flow at 50 mL min⁻¹. The calibration curve for the method presented a correlation coefficient greater than 0.99. Accuracy was confirmed using certified reference materials (DOLT-3 and DORM-1), with recovery rates of 93-110%. Precision had a relative standard deviation of less than 5%. Considering the optimized conditions, a detection limit of 0.28 µg kg⁻¹ was obtained. The method for determination of THg was applied to 10 samples of cat food purchased in local market. Concentration in the samples ranged from 0.035 to 0.388 mg kg⁻¹ THg, where the highest concentration was determined in foods with only tuna based ingredient. Only one sample presented concentration close to the limit established by regulatory agency. By calculating the estimated daily intake (EDI), cats would theoretically consume 0.0021 to 0.0233 mg HgT per day per kg body weight, considering the foods analyzed. Thus, none of the samples presented higher value than considered toxic for cats. Therefore, the method used was efficient, simple and low cost for the determination of THg in cat food.

Keywords: Mercury. Foods. Animals. Domestic Cats. Photochemical Vapor Generation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAFCO	<i>The Association of American Feed Control Officials</i>
AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (do inglês “ <i>Atomic Absorption Spectrometry</i> ”)
Abinpet	Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação
AFS	Espectrometria de fluorescência atômica (do inglês “ <i>Atomic Fluorescence Spectrometry</i> ”)
ANOVA	Análise de Variância
CF	Fluxo contínuo (do inglês “ <i>Continuous Flow</i> ”)
CF-HG-AAS	Espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto com fluxo contínuo (do inglês “ <i>Continuous Flow in Hydride Generation Coupled Atomic Absorption Spectrometry</i> ”)
CRM	Material de referência certificado (do inglês “ <i>Certified Reference Material</i> ”)
CV	Vapor Frio (do inglês “ <i>Cold Vapor</i> ”)
CVAAS	Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (do inglês “ <i>Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry</i> ”)
CVAFS	Espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio (do inglês “ <i>Cold Vapor Fluorescence Spectrometry</i> ”)
CVG	Geração química de vapor (do inglês “ <i>Chemical Vapor Generation</i> ”)
DBD-OES	Microplasma de descarga dielétrica de barreira como fonte de radiação para espectrometria de emissão óptica (do inglês: “ <i>Dielectric Barrier Discharge Microplasma as a Radiation Source for Optical Emission Spectrometry</i> ”)
ETV	Vaporização eletrotérmica (do inglês “ <i>Electrothermal Vaporization</i> ”)
ETV-ICP-MS	Vaporização eletrotérmica acoplada à espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (do inglês “ <i>Electrothermal Vaporization-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> ”)
FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês “ <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> ”)

FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (do inglês "Food and Agriculture Organization")
FCCD	Planejamento composto central de face centrada (do inglês "Face Centered Composite Design")
FDA	Food and Drug Administration
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (do inglês "Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometry")
GFAAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês "Furnace Atomic Absorption Spectrometry")
GLS	Separador Gás-Líquido (do inglês "Gas Liquid-Separator")
HCL	Lâmpada de cátodo oco (do inglês "Hollow-Cathode Lamp")
HG	Geração de hidretos (do inglês "Hydride Generation")
HG-AFS	Espectrometria de fluorescência atômica acoplada a geração de hidretos (do inglês "Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry")
HgT	Mercúrio Total
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (do inglês "Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry")
ICP-OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (do inglês "Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry")
IF	Injeção em fluxo (do inglês "Flow Injection")
IF-HG-ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente com geração de hidretos com injeção em fluxo (do inglês "Flow-injection Hydride Generation Coupled to Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry")
LMWCA	Ácido carboxílico de baixo peso molecular (do inglês "Low Molecular Weight Carboxylic Acid")
LOD	Limite de detecção (do inglês "Limit of Detection")
LOQ	Limite de quantificação (do inglês "Limit of Quantification")
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MIP-OES	Espectrometria óptica de emissão com plasma induzido por radiação microondas (do inglês "Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometer")
MQFA	Média quadrática da falta de ajuste
MQr	Média quadrática do resíduo
MQR	Média quadrática da regressão
NRC	National Research Council of Canadá
OMS	Organização Mundial da Saúde
PTWI	Ingestão Semanal Tolerável Provisória (do inglês "Provisional Tolerable Weekly Intake")
PVG	Geração fotoquímica de vapor (do inglês "Photochemical Vapor Generation")
PVG-AFS	Geração fotoquímica de vapor acoplada a espectrometria de fluorescência atômica (do inglês "Photochemical Vapor Generation Atomic Fluorescence Spectrometry")
PVG-CVAAS	Geração fotoquímica de vapor acoplada a espectrometria de absorção atômica com vapor frio (do inglês "Photochemical Vapor Generation Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry")
PVG-GFAAS	Geração fotoquímica de vapor acoplada a espectrometria de absorção atômica com forno grafite (do inglês "Photochemical Vapor Generation Furnace Atomic Absorption Spectrometry")
PVG-ICP-MS	Geração fotoquímica de vapor acoplada a espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (do inglês "Photochemical Vapor Generation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry ")
PVG-ICP-OES	Geração fotoquímica de vapor acoplada a espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (do inglês "Photochemical Vapor Generation Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry ")
PVG-MIP-OES	Geração fotoquímica de vapor acoplada a espectrometria óptica de emissão com plasma induzido por microondas (do inglês "Photochemical Vapor Generation Inductively Coupled Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometer ")

SQr	Soma quadrática do resíduo
SQR	Soma quadrática da regressão
SQFA	Soma quadrática da falta de ajuste
SQEP	Soma quadrática devido ao erro puro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Distribuição de animais de estimação no Brasil.....	24
Figura 2	– Número de publicações relativas à determinação de elementos traço em alimentos para animais.....	26
Figura 3	– Número de publicações relativas à determinação de Hg em alimentos para animais.....	26
Figura 4	– Sistema de injeção em fluxo para geração de hidretos com transporte direto.....	30
Figura 5	– Representação esquemática do sistema instrumental de PVG.....	33
Figura 6	– Sistema PVG com lâmpada UV-C do tipo <i>Grid Lamp</i>	40
Figura 7	– Reatores Fotoquímicos: (A) reator de 19 W de fluxo interno; (B) reator de 19 W com percurso de PTFE; (C) reator de 15 W com percurso de quartzo; (D) reator de 15 W com percurso de PTFE.....	45
Figura 8	– Separadores Gás-Líquido: (a) separador de filme fino (I); (B) separador com frita porosa; (C) separador de dimensões reduzidas; (D) separador <i>labmade</i>	47
Figura 9	– (A) Sistema instrumental de PVG-CVAAS; (B) Diagrama esquemático dos componentes do sistema PVG-CVAAS para a determinação de HgT.....	49
Figura 10	– Amostras de alimentos à base de atum para gatos.....	52
Figura 11	– Procedimento de preparo de amostra para extração de Hg.....	53

Figura 12 – Avaliação de configurações diferentes de Reatores Fotoquímicos.....	57
Figura 13 – Avaliação de configurações diferentes de Separadores Gás-Líquido.....	58
Figura 14 – Avaliação de Separadores Gás-Líquido de polipropileno com volumes internos diferentes.....	59
Figura 15 – Efeito do tipo e da concentração de ácidos orgânicos na resposta de soluções com 10 ug L ⁻¹ de Hg(II). Condições experimentais: reator (A), GLS (D), 4 s de irradiação e fluxo de gás carreador a 50 mL min ⁻¹	60
Figura 16 – Efeito do tempo de irradiação na resposta para soluções com 10 ug L ⁻¹ de Hg(II). Condições experimentais: reator (A), GLS (D), 10 % v v ⁻¹ de ácido fórmico e fluxo de gás carreador a 50 mL min ⁻¹	61
Figura 17 – Efeito do fluxo de gás carreador na resposta para soluções com 10 ug L ⁻¹ de Hg(II). Condições experimentais: reator (A), GLS (B), 10 % v v ⁻¹ de ácido fórmico e tempo de irradiação de 4 s.....	63
Figura 18 – Efeito do pH do meio na resposta para soluções com 10 ug L ⁻¹ de Hg(II). Condições experimentais: reator (A), GLS (D), 10 % v v ⁻¹ de ácido fórmico, tempo de irradiação de 4 s e fluxo de gás carreador de 50 mL min ⁻¹	64
Figura 19 – Gráfico de Pareto para o Planejamento Composto Central de Face Centrada.....	66
Figura 20 – (A) Gráfico de valores observados versus valores preditos e (B) gráfico de resíduo do Planejamento Composto Central de Face Centrada.....	69

Figura 21 – Superfícies de Resposta e Contorno para o Planejamento Composto Central de Face Centrada, (A) concentração de ácido fórmico x tempo de irradiação, (B) concentração de ácido fórmico x fluxo de gás, (C) tempo de irradiação x fluxo de gás.....	71
Figura 22 – Curvas analíticas para calibração do método.....	72
Figura 23 – Ingestão diária estimada de HgT para gatos com consumo de 0,150 kg de alimento e com peso corporal de 2,5 kg.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Características dos sistemas de geração de vapor.....	30
Tabela 2	– Diferentes espécies voláteis geradas por PVG e identificadas por GC-MS.....	35
Tabela 3	– Aplicações da PVG acoplada a diferentes técnicas espectrométricas de detecção.....	37
Tabela 4	– Condições operacionais do espectrômetro de absorção atômica.....	48
Tabela 5	– Variáveis e níveis do planejamento experimental.....	50
Tabela 6	– Matriz para o Planejamento Composto Central de Face Centrada.....	51
Tabela 7	– Resposta para o Planejamento Composto Central de Face Centrada (n = 2).....	65
Tabela 8	– ANOVA para o Planejamento Composto Central de Face Centrada.....	67
Tabela 9	– Condições otimizadas do sistema PVG-CVAAS.....	70
Tabela 10	– Determinação dos valores de concentração de HgT em CRM.....	73
Tabela 11	– Figuras analíticas de mérito para determinação de HgT.....	74
Tabela 12	– Limites de detecção para determinação de Hg utilizando diferentes técnicas.....	74
Tabela 13	– Concentração média de HgT (mg kg ⁻¹) nos alimentos à base de atum para gatos.....	76

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	20
2.1	Objetivo Geral	20
2.2	Objetivos Específicos.....	20
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
3.1	Mercúrio: ocorrência e toxicidade	21
3.2	Alimentos para animais de estimação.....	23
3.3	Sistemas de introdução de amostra.....	27
3.3.1	<i>Geração Química de Vapor</i>	<i>28</i>
3.3.2	<i>Geração Fotoquímica de Vapor</i>	<i>32</i>
3.3.3	<i>Aplicações analíticas da Geração Fotoquímica de Vapor</i>	<i>36</i>
4	MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1	Instrumentação	44
4.1.1	<i>Reatores Fotoquímicos</i>	<i>44</i>
4.1.2	<i>Separadores Gás-Líquido</i>	<i>46</i>
4.1.3	<i>Arranjo instrumental do sistema PVG-CVAAS</i>	<i>48</i>
4.2	Planejamento Experimental	50
4.3	Reagentes e amostras	52
4.4	Preparo da amostra para análise por PVG-CVAAS.....	52
4.5	Figuras analíticas de mérito	54
4.5.1	<i>Estratégia de calibração</i>	<i>54</i>
4.5.2	<i>Limite de detecção e quantificação</i>	<i>54</i>
4.5.3	<i>Exatidão</i>	<i>55</i>
4.5.4	<i>Precisão</i>	<i>55</i>
4.6	Determinação da ingestão diária estimada de HgT.....	55
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57

5.1	Influência do tipo de Reator Fotoquímico.....	57
5.2	Influência do tipo de Separador Gás-Líquido	58
5.3	Efeito da concentração de ácidos orgânicos	60
5.4	Efeito do tempo de exposição à radiação UV	61
5.5	Efeito do fluxo de gás carreador	62
5.6	Efeito do pH do meio	64
5.7	Planejamento Composto Central de Face Centrada	65
5.8	Parâmetros de desempenho	72
5.9	Avaliação do teor de HgT	75
5.10	Avaliação da ingestão diária estimada de HgT.....	78
6	CONCLUSÃO.....	81
	REFERÊNCIAS	82

1 INTRODUÇÃO

Devido a bioacumulação de Hg em tecidos biológicos como os de peixes e frutos do mar, este elemento pode gerar efeitos toxicológicos graves para os seres humanos. O efeito da contaminação em alimentos para animais de estimação (*pets*), como os gatos, também é um fator de preocupação, pois estes animais são extremamente sensíveis a baixas concentrações de elementos tóxicos. O teor de Hg em alimentos vem sendo determinado por técnicas convencionais de absorção atômica (VEREDA ALONSO et al., 2008). No entanto, poucos estudos na literatura demonstraram a preocupação em determinar níveis de Hg em produtos alimentícios para animais de estimação (*pet foods*) e poucos utilizaram sistemas de introdução de amostra baseados na geração de espécies voláteis acoplada a absorção atômica.

A demanda por determinações exatas e precisas de elementos em níveis traço em alimentos torna imprescindível o melhoramento da sensibilidade de técnicas analíticas instrumentais. A forma como a amostra é introduzida e transportada para os sistemas de atomização governa o desempenho e, portanto, afeta consideravelmente a análise de elementos químicos. Os sistemas de introdução de amostra são desenvolvidos na área da espectrometria atômica com o propósito de aumentar a eficiência da taxa de introdução de espécies na zona de atomização. Devido ao uso de sistemas com baixa eficiência de transporte de amostra, como é o caso da nebulização pneumática convencional, que apresenta eficiência de introdução de apenas 2-5%, têm-se a necessidade do emprego de novas estratégias (NAKAHARA, 2005; ROMANOVSKIY et al., 2018).

Uma das alternativas que pode ser utilizada para contornar o principal problema presente na nebulização convencional é a aplicação de sistemas de introdução do analito em sua forma gasosa, proporcionado por processos oriundos da Geração Química de Vapor (CVG) (TAI; JIANG; SAHAYAM, 2016). CVG é uma importante técnica amplamente utilizada devido a sua sensibilidade e seletividade aprimorada. Por meio desta, compostos iônicos ou organometálicos podem ser convertidos em espécies voláteis ou semivoláteis por meio de reações químicas (GAO; RUI; LU, 2013). Uma das principais vantagens é a separação do analito da matriz de origem que, conseqüentemente, reduz ou elimina possíveis interferências. Destaca-se também a capacidade de introdução de volumes maiores de amostra pelo sistema de geração de vapor, cuja eficiência de introdução pode chegar a 100%.

Devido a facilidade de acoplamento, a CVG pode ser combinada com diferentes técnicas espectrométricas, tais como a Espectrometria de Absorção Atômica - AAS (TAN et al., 2019), Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente - ICP-OES

(PEREIRA et al., 2014), Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente - ICP-MS (CHEN et al., 2015), Espectrometria de Fluorescência Atômica - AFS (ZENG et al., 2017) ou Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas - MIP-OES (MATUSIEWICZ; SLACHCINSKI, 2007). Em vista disso, o acoplamento destas técnicas com a CVG possibilita o aumento da sensibilidade.

Dentre as técnicas da CVG, a geração de Hidretos (HG) e o Vapor Frio (CV) são consideradas as mais difundidas. Na CVG ocorre um processo de derivatização química de espécies do analito em solução aquosa. Para isto, é utilizado reagentes redutores em meio ácido, como por exemplo os sais de tetrahidroboratos (THB). Elementos popularmente conhecidos como formadores de hidretos, tais como Se, As, Bi, Ge, Sb, Te, Sn, Ta e Pb são frequentemente determinados através de HG (ZHAO et al., 2010). Já o Hg é determinado especificamente pela geração de vapor frio através da redução da espécie iônica ao estado atômico livre, Hg(0), (RAMEZANI; BEHFAR; JAFARI, 2010).

Contudo, a CVG apresenta uma série de desvantagens, o que limita o uso da técnica para a sua expansão. Um problema periódico consiste na interferência devido à presença de metais de transição no meio reacional, o que pode levar a diminuição na sensibilidade e precisão (LIM. et al., 2018). Conseqüentemente, a limitação do número de elementos capazes de formar compostos voláteis constitui uma das principais desvantagens. O uso de reagentes instáveis e de alto custo e a alta geração de resíduos químicos também representam uma limitação e não são compatíveis com os preceitos da Química Verde (NÓBREGA et al., 2011). Deste modo, com a finalidade de contornar os problemas presentes na CVG, desenvolveu-se ao longo da década novos sistemas alternativos de introdução de amostra.

A Geração Fotoquímica de Vapor (PVG), por apresentar simplicidade, uso de reagente de baixo custo e as mesmas vantagens que a CVG, tornou-se atrativa e promissora para a comunidade científica como um sistema alternativo de introdução de amostra e geração de espécies voláteis. Neste sistema, as espécies voláteis do analito são geradas através de reações com espécies radicalares. Estes radicais, por sua vez, são provenientes de um composto orgânico, o qual é exposto junto com o analito a um campo de radiação ultravioleta (UV) proveniente de um reator fotoquímico (STURGEON, 2017). Além de ser aplicada para a determinação de elementos formadores de hidretos, os metais de transição (Cu, Fe, Ni e Co), não metais (Br, I e Cl) e metais nobres (Au, Ir, Pd, Pt e Rh) já foram determinados utilizando PVG (OLIVEIRA; BORGES, 2018; GUO et al., 2004; ZHANG et al., 2015). Ressalta-se também que a PVG além de ser utilizada em técnicas de espectrometria atômica, pode ser combinada com técnicas cromatográficas acopladas a espectrometria de massas com a

finalidade de identificar quais espécies foram geradas e para o desenvolvimento de rotas mecanísticas de formação das espécies voláteis.

O uso da técnica de geração de espécies voláteis também é amplamente utilizada para quantificar Hg em diferentes tipos de amostra, como lodo oleoso (PEREIRA et al., 2019), água de produção de petróleo (FRANCISCO BARBARA et al., 2016), vacina humana e veterinária (DOS SANTOS et al., 2010), cosméticos (GAO et al., 2014) e combustíveis (ORESTE et al., 2017). Mesmo com a expansão da PVG, não se tem publicação até o presente momento do uso da técnica para a determinação de Hg em amostras de alimentos para animais. Sendo assim, torna-se relevante o desenvolvimento da técnica hifenada a fim de obter uma ferramenta de maior capacidade analítica em relação as técnicas convencionais para a análise de Hg em alimentos para animais de estimação, principalmente para os gatos, cuja grande parte da alimentação é baseada em dietas com ingrediente principal a base de peixe.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Determinar o teor de Hg Total (HgT) presente em alimentos para gatos de estimação através da introdução de amostra por geração fotoquímica de vapor acoplada a espectrometria de absorção atômica com vapor frio (PVG-CVAAS).

2.2 Objetivos Específicos

- Montar um sistema instrumental de PVG e acoplar ao espectrômetro de absorção atômica;
- Otimizar as condições experimentais da PVG, por meio de variáveis como a concentração e tipo de precursor orgânico, tempo de irradiação da amostra, fluxo de gás carreador e reatores fotoquímicos e separadores gás-líquido com configurações diferentes;
- Averiguar a influência das variáveis na geração de espécies voláteis de Hg por meio de ferramentas quimiométricas de planejamento e otimização de experimentos;
- Avaliar a exatidão do método utilizando materiais de referência certificados;
- Aplicar o método PVG-CVAAS para determinar o teor de HgT em alimentos úmidos e enlatados a base de atum e frutos do mar para gatos, bem como avaliar o teor do elemento presente;
- Estimar a ingestão diária de HgT e o nível de exposição tóxica presente nos alimentos analisados.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Mercúrio: ocorrência e toxicidade

O Hg é um elemento químico classificado como potencialmente tóxico para a saúde humana e animal, sendo assim, considerado elemento não-essencial. Na forma inorgânica pode ser encontrado em três estados diferentes: o Hg elementar - Hg(0), sendo o único metal líquido sob condições normais de temperatura e pressão, no qual se encontra principalmente na forma de gás devido à alta pressão de vapor, o íon mercurioso - Hg₂²⁺, encontrado na forma de dímero salino como Hg₂Cl₂, e o íon mercúrico - Hg(II), que está geralmente associado a nitratos, cloretos, sulfetos ou sulfatos. Na forma orgânica, o íon mercúrico é ligado covalentemente a um radical orgânico, sendo o metilmercúrio - CH₃Hg⁺ e o dimetilmercúrio - (CH₃)₂Hg os mais comuns (LI et al., 2008).

O Hg(0) pode causar uma variedade de efeitos adversos, como problemas neurológicos, efeitos renais, câncer, efeitos no sistema respiratório ou efeitos cardiovasculares após exposição ao vapor do elemento. O Hg orgânico é mais tóxico do que as formas inorgânicas e o CH₃Hg⁺ é a forma mais tóxica em comparação com outras espécies, devido principalmente aos danos irreversíveis causados no sistema nervoso central (ZHENG et al., 2005). O Hg orgânico é biomagnificado em toda a cadeia alimentar, tendo concentrações mais tóxicas em peixes e em alguns mamíferos marinhos que são consumidos pelos seres humanos. Isto se deve ao elevado caráter lipofílico do Hg na forma orgânica, tornando a espécie facilmente permeável a membranas biológicas (MORAES et al., 2013). O CH₃Hg⁺ é facilmente introduzido em tecidos de peixes e frutos do mar devido a sua rápida difusão e o Hg(0) é transportado na atmosfera, depositado na terra e na água e liberado novamente na atmosfera. O Hg também é solúvel em corpos de água, onde as bactérias podem causar alterações químicas que transformam o Hg inorgânico em orgânico. Os peixes absorvem o CH₃Hg⁺ da água quando o composto passa pelas brânquias e quando o peixe se alimenta de organismos aquáticos (OKYERE; VOEGBOLO; AGORKU, 2015).

Nos seres humanos em torno de 90 a 100% de CH₃Hg⁺ é absorvido através do trato gastrointestinal, onde entra facilmente na corrente sanguínea e se distribui por todo o corpo (COUNTER; BUCHANA, 2004). Além disso, o Hg em sua forma orgânica pode se ligar a grupos sulfidrilas (-SH) existente nas proteínas dos seres vivos, formando assim, complexos proteicos fortes e estáveis e de alta mobilidade em tecidos biológicos. O Hg proveniente de fontes naturais e/ou antropogênicas, ao entrar nos ecossistemas aquáticos, participa de ciclos

biogeoquímicos mediados por microrganismos (LI et al., 2008; MICARONI; BUENO; JARDIM, 2000).

Devido ao processo de biomagnificação, peixes predadores que estão situados no topo da cadeia alimentar apresentam os maiores teores de Hg, como por exemplo o tubarão e o peixe espada. Já peixes como o atum e o robalo possuem alta concentração de Hg, porém em uma concentração inferior aos anteriores. Já o salmão por exemplo, possui uma baixa concentração do elemento. Em um estudo realizado por Alva et al. (2019), foi determinado o teor de HgT em mais de 50 amostras de atum em lata comercializadas no sudoeste do Brasil, onde observou que a concentração média foi de $0,256 \text{ mg kg}^{-1}$ com o maior valor registrado de $1,060 \text{ mg kg}^{-1}$. Já De Paiva, Morgano & Milani (2017) determinaram valores médios de $0,261 \text{ mg kg}^{-1}$ para HgT e $0,258 \text{ mg kg}^{-1}$ para CH_3Hg^+ em 30 amostras também de atum enlatado, indicando que o consumo de 4 latas por semana poderia ultrapassar a Ingestão Semanal Tolerável Provisória (PTWI) de CH_3Hg^+ que é de $1,6 \text{ ug kg}^{-1}$ por peso corporal.

Com base nas diretrizes da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) em relação a ingestão de elementos contaminantes em alimentos é estabelecido o teor máximo para a ingestão de Hg com base na PTWI e a ingestão diária aceitável. Segundo as normas destas organizações, sugere-se a presença de um teor máximo de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de HgT para frutos do mar e $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ para os peixes predadores como o atum (ANADÓN et al., 2006).

Grandes incidentes podem contribuir para o aumento da concentração de Hg no meio ambiente e conseqüentemente em peixes. A exposição ao Hg tem sido motivo de preocupação desde o desastre de Minamata (Japão), onde houve o descarte de toneladas de efluentes contendo CH_3Hg^+ por uma empresa de fertilizantes na Baía de Minamata, afetando significadamente a cadeia alimentar da região (MICARONI; BUENO; JARDIM, 2000). Com a expressiva contaminação na Baía, registrou-se mais de 2000 casos de doenças causadas pelo Hg devido ao consumo de peixe contaminado. Ressalta-se que o comportamento dos gatos da região de Minamata foi percebido como estranho, antes que os efeitos do envenenamento por Hg em humanos que comiam alimentos da mesma fonte fossem percebidos, indicando graves danos causados também em animais de estimação (LUIPPOLD; GUSTIN, 2016).

Outro caso mais recente de contaminação do meio ambiente causado por metais pesados incluindo o Hg é o do rompimento, em 2019, da barragem da Mineradora da Vale localizada em Minas Gerais. Uma alta concentração de metais pesados foi identificada no Rio Paraopeba, onde parte dos rejeitos foi parar. Foram verificadas as maiores concentrações de

HgT no rio, sendo a concentração 21 vezes maior que o limite permitido pelas normas ambientes.

A determinação da concentração de Hg em diferentes tecidos biológicos e alimentos é um desafio na área da espectrometria atômica devido às baixíssimas concentrações das espécies deste elemento, que requer técnicas muito sensíveis. Devido à alta toxicidade e a capacidade de acumulação de Hg nos alimentos, torna-se necessário o desenvolvimento de metodologias analíticas que visem a determinação de quantidades a nível traço e ultratraço (MORAES et al., 2013). O Hg pode ser determinado como HgT ou apenas na sua forma inorgânica ou orgânica para fins de estudo de especiação química. A determinação de Hg em diferentes espécies de peixe, frutos do mar e alimentos oriundos destes pode ser feita através de medidas em absorção atômica utilizando a técnica hifenada CVAAS ou por GFAAS e ICP-MS.

3.2 Alimentos para animais de estimação

Os animais de estimação ocupam um número extenso e crescente nos domicílios brasileiros. Quase todas as pessoas possuem um animal de estimação em sua residência e consideram como parte de sua família. Desta forma, a preocupação de donos de animais em relação à alimentação é relevante, uma vez que se torna importante o conhecimento do tipo de alimento que está sendo oferecido ao animal.

Os alimentos comerciais para animais de estimação, especificamente cães e gatos, são uma maneira fácil e econômica de atender às exigências nutricionais. Estes alimentos fornecem mais de 90% das calorias consumidas pelos animais de estimação na América do Norte, Japão, Norte da Europa, Austrália e Nova Zelândia (ZICKER, 2008). Contudo, devido à grande variedade de alimentos comerciais disponíveis no mercado, incluindo produtos secos, úmidos, semi-úmidos, enlatados e petiscos/guloseimas que são baseados na raça, tamanho e no estágio da vida do animal, quantidades consideráveis de metais tóxicos e também de micotoxinas podem ser encontrados (COSTA et al., 2013).

Segundo dados de 2018 (Figura 1) da Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (Abinpet), o território brasileiro possui 139,3 milhões de animais de estimação, sendo 17,2% gatos, 38,9% cães e o restante da população é dividida em aves canoras e ornamentais (28,6%), peixes ornamentais (13,7%) e outros animais como os pequenos roedores (1,7%). Sendo assim, o Brasil é o 4º maior país em população de animais de estimação.

Figura 1 – Distribuição de animais de estimação no Brasil.



Fonte: Abinpet, 2018.

Segundo a Abinpet, a indústria de alimentos para esses animais no país vem crescendo e, em 2018, o Brasil tornou-se o 2º maior em faturamento mundial no ramo do *pet food*, onde o setor movimentou mais de R\$ 20 bilhões. O órgão responsável no Brasil pela regulamentação de alimentos para animais é o ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e a Lei 6.198, de 26 de dezembro de 1974 estabelece normas para fiscalização, comércio e uso de produtos alimentícios para os animais. As diretrizes adotadas são estabelecidas pela *The Association of American Feed Control Officials* (AAFCO) e pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA. Desta forma, os ingredientes presentes nos alimentos são definidos e permitidos por estas agências.

As proteínas, gordura, carboidratos, vitaminas e minerais são necessários para um funcionamento correto do organismo. Metais como Fe, Cu e Mn são conhecidos por serem elementos traço essenciais para os animais de estimação, pois atuam na transmissão do impulso nervoso e contração muscular. Muitos elementos essenciais que estão presentes apenas em quantidades mínimas no corpo atuam como auxiliares em uma ampla variedade de reações enzimáticas. Animais de estimação podem obter muito ou pouco de um elemento específico em suas dietas. Devido a isto, é importante definir o teor de elementos presentes nos alimentos (DURAN; TUZEN; SOYLAK 2010; ZICKER, 2008). A instrução normativa da MAPA, no entanto, estabelece apenas que concentrações mínimas e máximas de elementos como Ca e P devem ser apresentadas nos rótulos dos produtos, sendo o teor de elementos tóxicos presentes nos alimentos um fator de preocupação.

Os alimentos podem ser uma fonte de ingestão de Hg, principalmente em áreas onde os peixes são os principais componentes da composição alimentar como nas populações

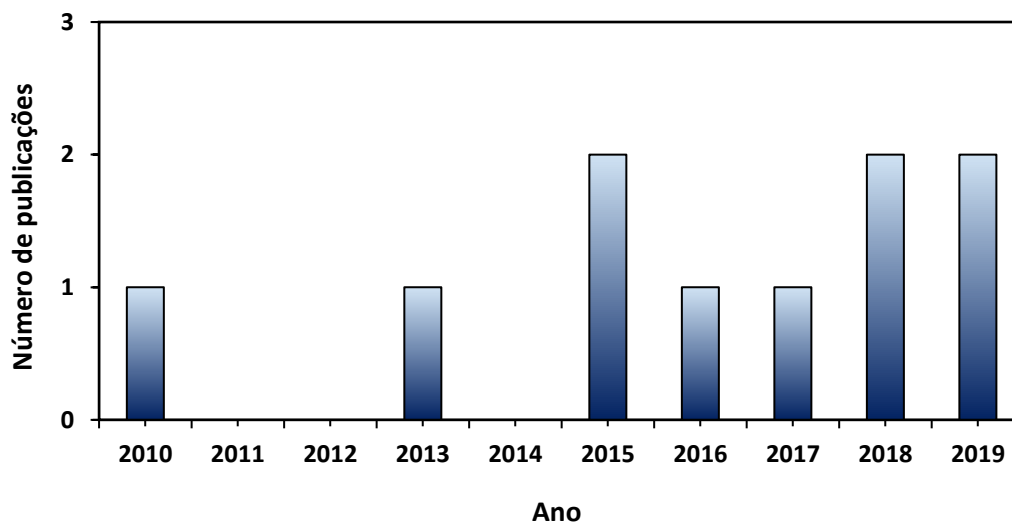
ribeirinhas. Os peixes acumulam concentrações consideráveis de Hg no tecido biológico e, portanto, podem representar uma potencial fonte do metal (BISCHOFF; RUMBEIHA, 2018; VEREDA ALONSO et al., 2008). Há recomendações definidas para limitar o consumo de peixe por seres humanos, a fim de proteger a saúde humana contra os efeitos de metais tóxicos. No entanto, não há recomendações para limitar a quantidade de Hg em produtos alimentícios que incluem ingredientes com produto e subproduto de origem animal como carne bovina, aves e principalmente peixes e frutos do mar para os animais de estimação (LUIPPOLD; GUSTIN, 2016).

Enquanto a maioria das pessoas consomem uma dieta de várias fontes, para os animais de estimação, uma única lata com alimento de uma única marca ou lote será a principal ou única fonte de nutrição até que o alimento tenha sido completamente consumido. A dieta uniforme da maioria dos cães e gatos, embora preferida por razões nutricionais, aumenta o risco de efeitos adversos se um contaminante estiver presente. Dentre os animais de estimação, os gatos são considerados uma das espécies mais suscetíveis à intoxicação por Hg pois o ingrediente majoritário presente nos alimentos para estes animais é oriundo de peixes (BISCHOFF; RUMBEIHA, 2018).

Como relatado, o mercado do *pet food* mesmo possuindo leis de regulamentação, ainda possui baixa atenção em relação a contaminação por metais potencialmente tóxicos. Sabendo disto, a aplicação de metodologias analíticas para a determinação de elementos como o Hg são indispensáveis, uma vez que quantidades traço podem causar efeitos toxicológicos gravíssimos e irreversíveis para os animais.

É importante frisar que nos últimos anos se tem um número extremamente escasso de publicações na literatura em relação a determinação e ao monitoramento de elementos traço essenciais e não essenciais presentes em alimentos para animais de estimação. Com base em um levantamento bibliográfico e utilizando a plataforma acadêmica *Scopus* e as palavras-chave “*pet food*”, “*trace elements*” e “*determination*” constatou-se que nos últimos nove anos, foram publicados um total de 10 artigos com determinação de elementos como Al, Cr, Mn, Pb, Se, Be, Ni e Fe (Figura 2).

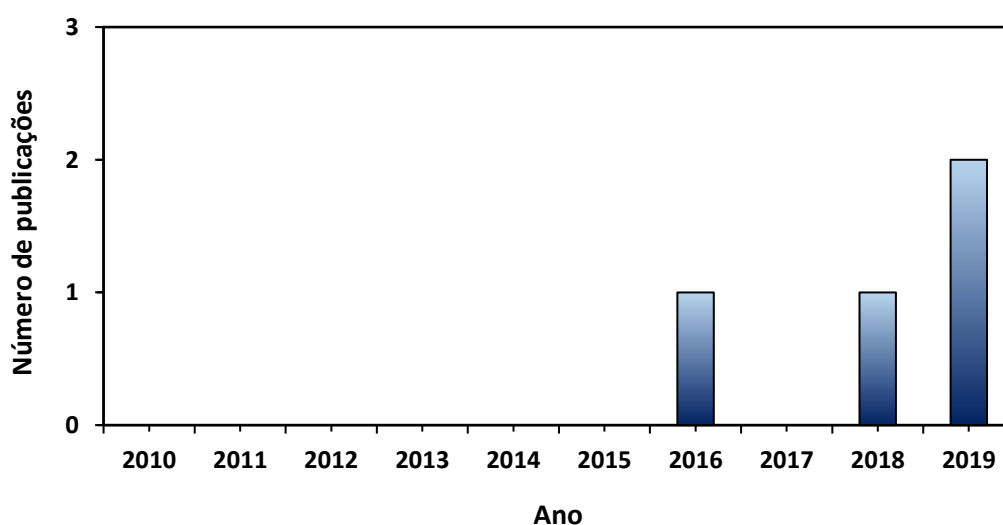
Figura 2 – Número de publicações relativas à determinação de elementos traço em alimentos para animais.



Fonte: próprio autor.

Já em um segundo levantamento bibliográfico (Figura 3) utilizando as palavras-chave “*pet food*”, “*mercury*” e “*determination*”, constatou-se que, dentro dos artigos publicados nos últimos 9 anos, apenas 4 aplicaram metodologias para a determinação do teor de Hg. Desta forma, comprova-se a baixa atenção para o desenvolvimento e aplicação de metodologias analíticas baseadas na espectrometria atômica a fim de avaliar a composição inorgânica presente em alimentos voltados principalmente para cães e gatos, bem como a avaliação da exposição tóxica a elementos não-essenciais como o Hg.

Figura 3 – Número de publicações relativas à determinação de Hg em alimentos para animais.



Fonte: próprio autor.

3.3 Sistemas de introdução de amostra

Os sistemas de introdução de amostra merecem significativa atenção no desenvolvimento da espectrometria de absorção atômica por serem fontes de erros sistemáticos e, pela análise de traço, depender crucialmente da eficiência destes sistemas. Tais sistemas são responsáveis por transportar a amostra no canal central do instrumento até a zona de atomização (WANG, 2004). Normalmente, as amostras são introduzidas na forma de aerossol de gotículas finas, onde são transportadas por um fluxo carreador de gás pelo processo de nebulização pneumática. Contudo, os sistemas convencionais apresentam eficiência de introdução da amostra menor do que 10%. Sistemas alternativos de introdução de amostra foram desenvolvidos para melhorar a performance analítica, podendo ser acoplados facilmente aos equipamentos. Os dispositivos de vaporização eletrotérmica (ETV) (HASSLER et al., 2011), a geração de vapor (D'ULIVO et al., 2011) e a ablação a Laser (LOBO; PEREIRO; FERNÁNDEZ, 2018), são exemplos dos sistemas alternativos que foram desenvolvidos ao longo dos anos. Sistemas de introdução de amostra baseados na geração de vapor são amplamente acoplados a AAS.

A AAS também é corriqueiramente empregada para análise de elementos traço em razão de sua simplicidade, efetividade e por apresentar um custo relativamente baixo. A AAS fundamenta-se pela absorção de radiação pelos elementos. Quando um vapor atômico contendo átomos livres de um elemento no estado fundamental é submetido a uma fonte de luz, a radiação absorvida por estes átomos, excita os elétrons do estado fundamental para um nível de energia mais alto. O grau de absorção da radiação torna-se uma medida quantitativa para a concentração dos átomos do estado fundamental no vapor atômico (VANDECASTEELE; BLOCK, 1993; SKOOG; CROUCH; HOLLER, 2009).

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e a com atomização eletrotérmica (ETAAS), estão entre as técnicas que fazem parte do escopo da AAS. O processo de dessolvatação até a atomização ocorre por meio do aquecimento em chama que alcança temperaturas em torno de 3.000 °C ou por meio do uso de atomizadores eletrotérmicos como o forno de grafite (GFAAS). Em GFAAS é aplicado um programa de aquecimento que possibilita um controle maior em relação aos interferentes da matriz, devido a inclusão de uma etapa de pirólise, além de permitir análise direta de amostras sólidas, microvolume de solução e maior permanência da nuvem atômica no caminho ótico, o que confere maior sensibilidade. Outra técnica frequentemente presente na AAS é a de CVG, na qual fornece um grande aumento de sensibilidade (WELZ; SPERLING, 1999).

3.3.1 Geração Química de Vapor

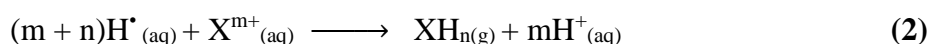
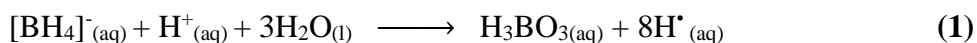
Tendo em vista as desvantagens em relação as técnicas convencionais de nebulização, alternativamente, o analito presente na amostra é capaz de ser introduzido em sua forma volátil. A conversão à espécie volátil pode ser efetuada pela CVG, onde os analitos são derivatizados em átomos ou moléculas em estado gasoso por meio de uma reação química e com posterior introdução no atomizador ou célula de absorção. A CVG é amplamente acoplada com técnicas de absorção atômica (D'ULIVO et al., 2003).

Dentre as vantagens têm-se a separação do analito da matriz, proporcionando a redução de espécies potencialmente interferentes, alta eficiência de introdução de amostra do vapor do analito, aumento da sensibilidade e seletividade, facilidade de pré-concentração *in situ* do vapor, receptiva automação, além da possibilidade de estudos de especiação química. A facilidade de acoplamento permite a combinação da CVG com diferentes técnicas de absorção e emissão atômica (PEREIRA et al., 2014; ZURYNKOVÁ; DEDINA; KRATZER, 2018). Pela CVG é possível converter alguns elementos em compostos voláteis através de reação química em meio acidificado. Uma das técnicas mais importantes utilizadas na CVG baseia-se na conversão das espécies em hidretos voláteis através da reação do analito com um agente redutor, sendo NaBH_4 o mais utilizado, sistema este mais conhecido como HG. Substâncias como KBH_4 , LiBH_4 , cianotrihidroborato(III) e complexos de boranas como aminoboranas também já foram empregados na literatura como agentes redutores (D'ULIVO et al., 2003; YIN; LIU; JIANG, 2011).

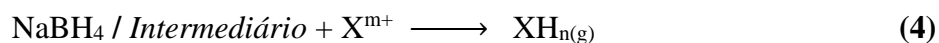
O uso da HG iniciou pela aplicação de metais em pó (Zn, Al ou Mg) em meio ácido pelo método de *Gutzeit* para a determinação de As através da redução a arsina (AsH_3). No entanto, estes reagentes limitaram a aplicabilidade, ficando restrita apenas a formação de AsH_3 , SbH_3 e H_2Se . Porém, a utilização de soluções redutores de NaBH_4 estabilizadas em meio alcalino mostraram-se mais adequadas para a formação de hidretos voláteis. Assim, a determinação de uma maior gama de elementos formadores de hidretos foi possível, como H_2Te , PbH_4 , BiH_3 e GeH_4 (STURGEON; MESTER, 2002). Hoje, com o avanço da espectrometria atômica, torna-se possível a geração de espécies voláteis de um pequeno grupo de metais de transição (Zn, Ni, Fe, Rh, Au, Cu e Co) por meio de reação com NaBH_4 (FENG et al., 2005).

Com base na literatura, duas hipóteses mecanísticas foram desenvolvidas a fim de explicar a formação de hidretos voláteis. A primeira hipótese baseia-se na formação de hidrogênio atômico através da hidrólise ácida do agente redutor. Neste mecanismo, o íon BH_4^-

reage com H^+ gerando ácido bórico e o hidrogênio atômico. Em seguida, o hidrogênio atômico é responsável por reagir com o íon do analito presente na amostra, gerando o hidreto volátil (XH_n). O hidrogênio atômico em excesso que não reagiu forma H_2 . Tanto o processo de formação do hidrogênio atômico quanto a reação com o analito são representados pelas Equações 1 e 2 respectivamente (D'ULIVO et al., 2011):



Uma segunda hipótese mecanística foi descrita por autores que discordavam da formação do hidreto volátil a partir da redução de H^+ a hidrogênio atômico. Por meio desta, é mais favorável que ocorra a transferência de átomos de hidrogênio diretamente ligado ao boro para o analito, precedida pela formação de complexos intermediários de analito-borano. De acordo com esta hipótese, a geração do hidreto volátil é representada pelas Equações 3 e 4 (D'ULIVO et al., 2011; D'ULIVO et al., 2010):



De acordo com o relatado por Ramesh Kumar & Riyazuddin (2005), foi possível evidenciar experimentalmente com o uso de reagentes deuterados que a formação do hidreto volátil ocorre por meio da transferência do hidrogênio diretamente ligado ao boro, com formação de produtos intermediários, refutando a hipótese mecanística de que o hidreto era gerado pela formação previa do hidrogênio nascente.

Para a aplicação da geração de vapor existem três possíveis sistemas que podem ser utilizados para a formação de espécies voláteis: os sistemas em batelada, sistemas em fluxo contínuo e os sistemas de injeção em fluxo. A Tabela 1 apresenta as características pertinentes a cada um dos sistemas.

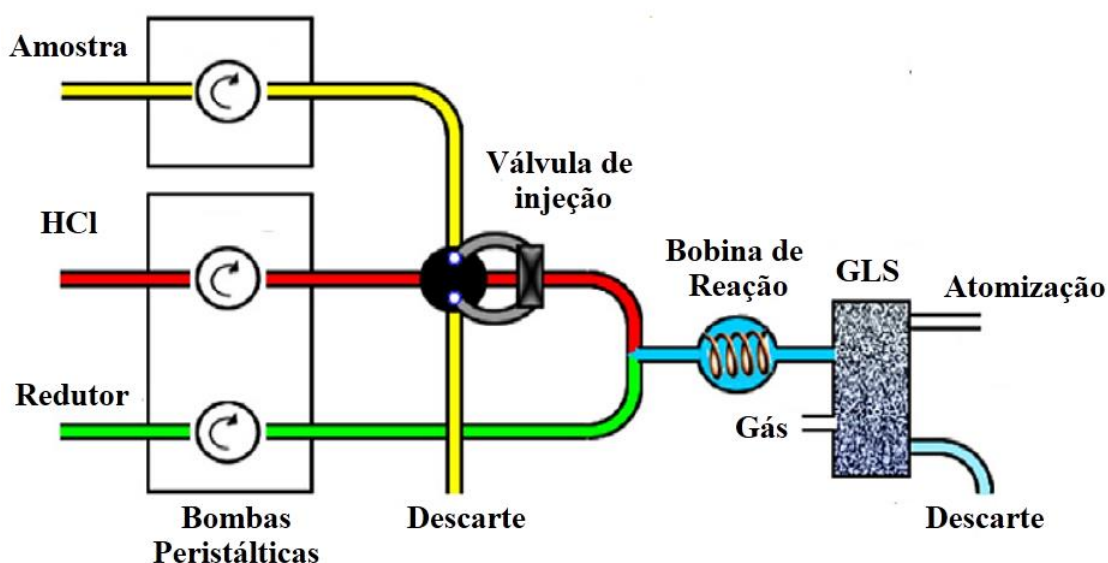
Tabela 1 – Características dos sistemas de geração de vapor.

Sistema	Características
Sistema em Batelada	<ul style="list-style-type: none"> - Introdução manual de volume de amostra (1-50 mL); - O agente redutor é introduzido por meio de uma bomba peristáltica ou com injeção manual; - A espécie gasosa é transportada para o sistema de atomização ou célula de absorção por um gás carreador inerte; - Baixa possibilidade de automação e frequência analítica.
Fluxo Contínuo (CF)	<ul style="list-style-type: none"> - A amostra e o agente redutor são transportados continuamente em tubos a um ponto de mistura por bombas peristálticas; - Após o transporte para a zona de reação, a separação das fases ocorre por meio de um separador gás-líquido (GLS); - O sinal analítico é proporcional à concentração do analito;
Injeção em Fluxo (IF)	<ul style="list-style-type: none"> - Solução carreadora é bombeada continuamente e um pequeno volume de amostra é injetado por válvulas solenoides; - Sinal depende da dispersão da amostra na solução carreadora; - Possibilidade de automação e maior frequência analítica; - Sinal transiente gerado no detector, cuja altura do pico é proporcional à concentração do analito.

Fonte: WELZ; SPERLING, 1999.

Nos sistemas em fluxo as espécies voláteis podem ser transportadas para o atomizador na forma direta de acordo com a Figura 4 ou o vapor gerado pode ser antes coletado em dispositivos de aprisionamento/coleta e pré-concentração.

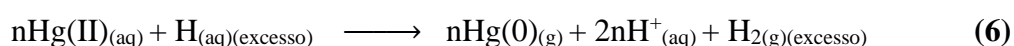
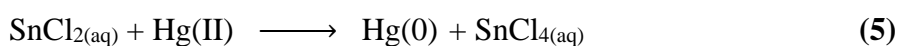
Figura 4 – Sistema de injeção em fluxo para geração de hidretos com transporte direto.



Fonte: PARODI et al., 2015

Os sistemas em fluxo contínuo e injeção em fluxo são os mais empregados na literatura. Tan et al. (2019) propuseram um método com sistema de fluxo contínuo para a determinação de Te(IV) em amostras de águas por meio de CF-HG-AAS e pré-concentração em microcoluna de sílica dopada com nano-TiO₂. As espécies de H₂Te foram geradas após otimização do sistema com uso de HCl 30% v v⁻¹, NaBH₄ a 1,5% m v⁻¹, fluxo de reagente a 12 mL min⁻¹ e de gás a 200 mL min⁻¹. O LOD obtido foi 850 vezes menor quando comparado com a determinação por nebulização em FAAS. Já Chen et al. (2015) utilizaram um sistema IF-HG-ICP-MS para determinar As, Sb e Bi em cosméticos. A condição otimizada resultou em NaBH₄ 5,0% m v⁻¹, solução carreadora com HCl 1,2% v v⁻¹, fluxo de reagentes a 0,95 mL min⁻¹, injeção de volume de amostra de 100 uL e 20 cm da bobina de reação. A técnica foi comparada com a análise de materiais de referência por ETV-ICP-MS com tubo de grafite modificado. Com IF-HG-ICP-MS, os resultados foram concordantes com o teor de As, Sb e Bi nos materiais de referência, bem como com os resultados por ETV, diferindo por exemplo em apenas 1% no valor de concentração de Bi entre ambas as técnicas.

Outra técnica presente na CVG, utilizada para a determinação específica de Cd e de Hg, é a de Vapor Frio (CV). O NaBH₄ é normalmente aplicado como agente redutor para a determinação de Cd, enquanto o NaBH₄ ou SnCl₂ são usados para a determinação de Hg (GAN; SHI; SU, 2004). O NaBH₄ é um agente redutor mais forte comparado ao SnCl₂, tendo a capacidade de reduzir tanto Hg(II) quanto a espécie orgânica. Na técnica de CV acoplado a AAS, o Hg volátil formado em um sistema fechado é carregado para uma célula de absorção de quartzo posicionada no caminho ótico do equipamento, onde é gerado uma nuvem atômica densa. A equação de redução do Hg(II) por SnCl₂ é representada pela Equação 5, enquanto a redução do Hg(II) por NaBH₄ é representada pela Equação 6. Com ponto de ebulição relativamente baixo e alta volatilidade, torna-se possível realizar medidas analíticas de Hg sem adição de energia térmica proveniente de chama ou aquecimento eletrotérmico.



Como a técnica de CV é bastante aplicável para determinação de Hg em tecidos biológicos por absorção atômica, Vereda Alonso et al. (2008) realizaram um estudo de determinação de Hg por CV em frutos do mar com pré-concentração em coluna com resina quelante. Foi possível obter LOD de 0,01 ug L⁻¹ para CVAAS e 0,006 ug L⁻¹ para CV-GFAAS,

valores adequados para as amostras analisadas, e recuperação em tecido de mexilhão e amêijoia de mais de 96% e 98% para Hg(II) e CH₃Hg⁺, respectivamente.

Contudo, a CVG mesmo proporcionando benefícios através de técnicas como a de CV em relação a nebulização convencional, apresenta uma série de limitações. Destaca-se a alta instabilidade química dos agentes redutores em solução aquosa, sendo uma fonte de contaminação para a análise, séria interferência causada por metais de transição, aplicabilidade comprometida para elementos químicos que não fazem parte do grupo dos formadores de hidretos devido à baixa compatibilidade à reação, alta quantidade de hidrogênio gasoso permanente no processo que é capaz de instabilizar ou extinguir o plasma de um ICP-OES ou ICP-MS e a alta quantidade de resíduos tóxicos gerados pela degradação dos agentes redutores e da alta concentração de HCl (GUO et al., 2004; GAO et al., 2015a). As limitações presentes na CVG impulsionaram o desenvolvimento de novos sistemas de geração de espécies voláteis para a introdução de amostra, tais como a Geração Termoquímica de Vapor (STURGEON; LUONG, 2013), Geração Eletroquímica de Vapor (JIANG et al., 2010), Geração Sonoquímica de Vapor (RIBEIRO et al., 2007) e a Geração Fotoquímica de Vapor (STURGEON, 2017).

3.3.2 Geração Fotoquímica de Vapor

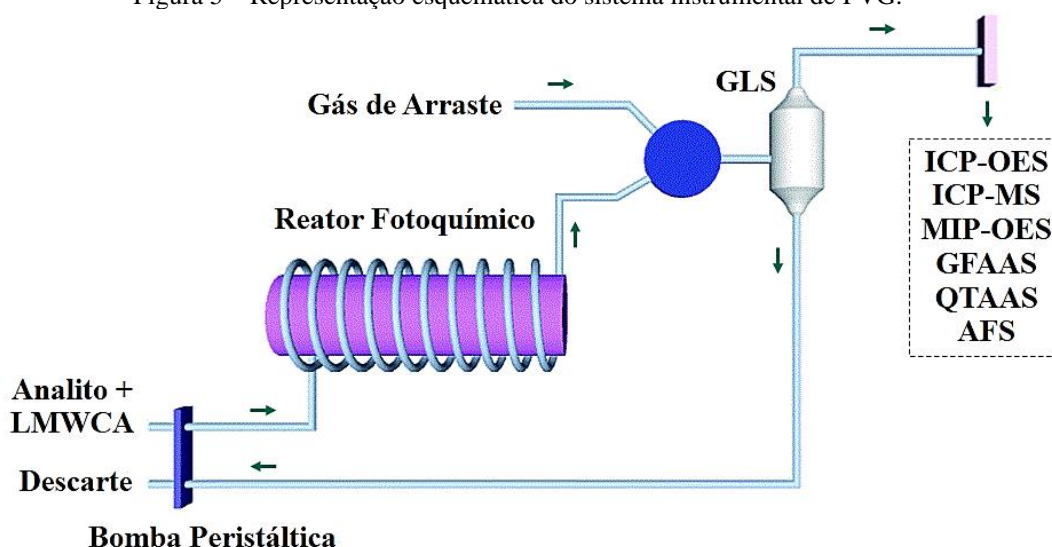
O estudo da Fotoquímica engloba reações que ocorrem sob a influência da luz visível ou da radiação ultravioleta (UV). A primeira lei desta, conhecida como a lei de *Grotthuss-Draper*, afirma que a luz deve ser absorvida por um determinado composto para que ocorra a reação fotoquímica. A radiação do tipo UV compreende comprimentos de onda entre 100 e 400 nm e pode ser classificada como UV-A (400-315 nm), UV-B (315-280 nm), UV-C (280-100 nm) e UV em vácuo (< 200 nm). Na região espectral do UV-C, fótons energéticos estão disponíveis para a clivagem homolítica de ligações C–C e de muitas outras (STURGEON, 2017). As fontes de radiação UV também são extensivamente utilizadas como ferramentas poderosas para a geração seletiva de intermediários reativos (espécies radicalares) por meio de ácidos, álcoois e aldeídos de baixo peso molecular, fornecendo acesso a vias de reação de alta energia (LOENORI; STURGEON, 2018).

Sendo uma técnica ainda emergente na área da química analítica, a Geração Fotoquímica de Vapor (PVG), desenvolvida a partir do século XXI, é caracterizada por ser uma técnica que visa a conversão de analitos em espécies voláteis por meio do uso de um reator fotoquímico com fonte de radiação UV-C e um composto orgânico que é adicionado à solução

amostra, sendo mais utilizado um ácido carboxílico de baixo peso molecular (LMWCA) (SOUKAL; STURGEON; MUSIL, 2018). A PVG contém as principais vantagens que a CVG, o que inclui a versatilidade de hifenação e automação com técnicas espectrométricas. Além disso, a PVG segue os preceitos da Química Verde por não utilizar agentes redutores caros e de alta instabilidade, onde devem ser preparados diariamente (LOPES et al., 2017; GAO et al., 2011). Na PVG utiliza-se reagentes simples e baratos como ácidos, álcoois ou aldeídos de baixo peso molecular, o que fornece um melhor custo-benefício. Ocorre diminuição de resíduos químicos pois os reagentes utilizados são parcialmente degradados pela radiação UV. A técnica proporciona a facilidade de análise direta de especiação química sem separação cromatográfica. Também é menos sujeita a interferência de metais de transição como Fe(III), Ni(II) e Co(II), que se reduzem ao estado metálico e formas coloidais proferindo significativa interferência na técnica de HG (YIN; LIU; JIANG, 2011; ZHENG; STURGEON; HOU, 2009).

Os principais componentes de um sistema instrumental da PVG estão representados esquematicamente na Figura 5. O sistema é composto por uma bomba peristáltica para o transporte da amostra e descarte de resíduo, um reator fotoquímico constituído por uma lâmpada de fonte UV-C de Hg de baixa pressão, um sistema tubular para percurso analítico da amostra, o separador de fases – Separador Gás-Líquido (GLS), canal de gás para arraste de espécies voláteis e acoplamento com uma técnica espectrométrica de detecção.

Figura 5 – Representação esquemática do sistema instrumental de PVG.

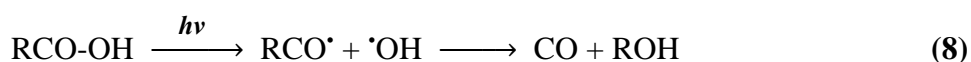
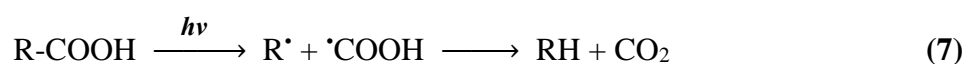


Fonte: JIA et al., 2015.

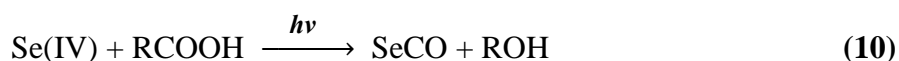
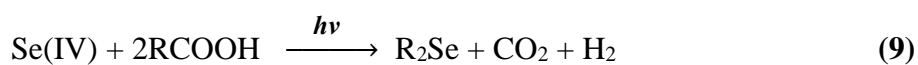
A exposição de ácidos carboxílicos a radiação UV produz uma série de radicais como H^\bullet , CO^\bullet , CH_3^\bullet , CO_2^\bullet e COO^\bullet dependo da estrutura química do ácido. Estes radicais possuem a capacidade de converter íons metálicos em espécies elementares como $\text{Hg}(0)$,

produtos hidrogenados, alquilados, carbonilados, bem como dar origem a espécies de vapor de halogenetos (CH_3X) (LOENORI; STURGEON, 2018). Elucidar o mecanismo da geração de espécies voláteis é muito útil para prever as condições e o desempenho analítico da PVG. Já a identificação das espécies e as vias de reação é importante para deixar claro o mecanismo complicado da reação fotoquímica (YIN; LIU; JIANG, 2011). Mesmo que um grande esforço seja feito para identificar os produtos gerados, ainda não há um mecanismo radicalar exato que origina as espécies voláteis. Porém, proposições mecanísticas estão sendo realizadas constantemente na área com o propósito de minimizar esta limitação.

Guo et al. (2003) propuseram um mecanismo para a geração de radicais livres através da decomposição fotolítica anaeróbica de um LMWCA. As Equações 7 e 8 descrevem as reações para a geração de espécies radicalares através da radiação UV, onde $\text{R} = \text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ e $n = 0, 1, 2$:



A reação 7 ocorre com maior frequência do que a 8 e, especificamente com ácido fórmico, a reação 7 ocorre seis vezes com maior frequência. Neste mesmo estudo foi utilizado um reator fotoquímica a base de lâmpada UV de 15 W e tubos de poli(tetrafluoetileno) (PTFE) para transporte da amostra contendo Se(IV) em sistema de CF. Os radicais formados podem reduzir o Se(IV) gerando espécies voláteis do analito de acordo com as Equações 9 e 10:



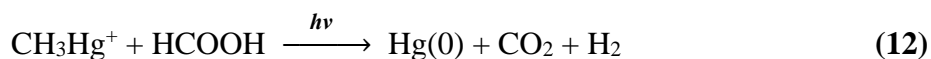
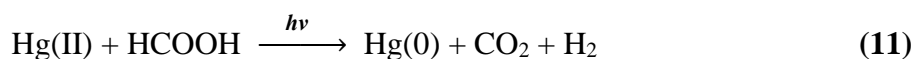
Por meio da análise de GC-MS de produtos finais, foi possível identificar as espécies voláteis de SeCO e SeH₂, (CH₃)₂Se e (CH₃CH₂)₂Se após redução do Se(IV) com ácido fórmico, ácido acético e ácido propanoico respectivamente (GARDNER, GUO, STURGEON, 2003). Com base em Sturgeon (2017), elementos como As(III), As(V), Br(-I), I(-I), Ni(II), Fe(II), Fe(III) e Co(II) tiveram seus produtos oriundos da PVG identificados. Por análise de GC-MS, os produtos voláteis dominantes da PVG de elementos como Co(II), Ni(II) e Br(-I) são descritas na Tabela 2:

Tabela 2 – Diferentes espécies voláteis geradas por PVG e identificadas por GC-MS.

Tipo de ácido orgânico de baixo peso molecular			
Analito	Fórmico	Acético	Propanoico
Hg(II)	Hg(0)	Hg(0)	Hg(0)
CH ₃ HgCl	Hg(0)	Hg(0)	Hg(0)
Se(IV)	SeH ₂	Se(CH ₃) ₂	Se(C ₂ H ₅) ₂
As(III/V)	AsH ₃	As(CH ₃) ₃	As(C ₂ H ₅) ₃
Ni(II)	Ni(CO) ₄	Ni(CO) ₄	-
Fe(II/III)	Fe(CO) ₅	Fe(CO) ₅	-
Co(II)	Co(CO) ₄ H	-	-
I(-I)	HI	CH ₃ I	C ₂ H ₅ I
Br(-I)	HBr	CH ₃ Br	C ₂ H ₅ Br
Cl(-I)	HCl	CH ₃ Cl	-

Fonte: STURGEON, 2017.

Até o momento nenhuma identificação específica de espécies voláteis de Sn, Sb, Pb ou Os foi relatada mesmo sendo detectadas por técnicas espectrométricas. Pode-se especular que as espécies destes elementos são: SnH₂, Sn(CH₃)₂ e Sn(C₂H₅)₂; SbH₃, Sb(CH₃)₃ e Sb(C₂H₅)₃; PbH₄, Pb(CH₃)₄ e Pb(C₂H₅)₄ e OsO₄. Além do Se, estudos têm sido realizados em relação as reações que regem a PVG do Hg. Sendo este elemento um dos primeiros a serem aplicados na PVG, possui uma gama de aplicações com o uso da técnica de geração de vapor com base na literatura. Zheng et al. (2005) propuseram, por meio das Equações 11 e 12, a conversão de espécies de Hg(II) e CH₃Hg⁺ para Vapor Frio de Hg(0) em meio a ácido fórmico. Tanto a espécie inorgânica quanto a orgânica podem ser reduzidas pela radiação UV.



3.3.3 Aplicações analíticas da Geração Fotoquímica de Vapor

Devido a instrumentação simples, a PVG pode ser acoplada facilmente a técnicas de emissão ou absorção atômica. Contudo, o desempenho destas técnicas com a PVG e a eficiência de derivatização dos analitos em espécies voláteis, dependem crucialmente da instrumentação utilizada. A transmissão da radiação UV e a separação de fases dos produtos de PVG estão sujeitas as configurações dos reatores fotoquímicos e GLS, respectivamente. A taxa de fluxo da amostra, utilizada para variar o tempo de residência de exposição da amostra à fonte de radiação UV e a vazão de gás carreador também fazem parte do grupo das variáveis que mais influenciam na aplicabilidade da PVG para análise de amostras ambientais, biológicas ou clínicas.

Jesus, Grinberg & Sturgeon (2016) investigaram a configuração de 3 reatores fotoquímicos para a determinação de espécies voláteis de Co(II) em tecido biológico de frutos do mar por PVG-ICP-OES. A alta eficiência foi alcançada por meio do uso de uma lâmpada de 19 W com fluxo interno e percurso analítico a base de quartzo. Utilizou-se também uma lâmpada germicida de 15 W e uma pequena lâmpada (*pen lamp*) de 3 W, ambas com percurso analítico em espiral a base de PTFE ao redor das lâmpadas. O quartzo proporcionou uma maior absorção da radiação UV por parte da amostra gerando assim, maior quantidade de espécies voláteis. Com uso de 50% v v⁻¹ de ácido fórmico, tempo de irradiação de 13 s e fluxo de gás carreador no GLS de 160 mL min⁻¹, foi possível obter LOD de 0,4 ug L⁻¹.

A tabela 3 apresenta várias aplicações da PVG durante os últimos anos, onde é exibido os elementos que foram determinados, o tipo de amostra analisada, a técnica de detecção empregada e alguns comentários pertinentes à literatura.

Tabela 3 – Aplicações da PVG acoplada a diferentes técnicas espectrométricas de detecção.

Elemento(s)	Amostra(s)	Técnica	Comentário	Referência
Mo	Suplemento dietético	ICP-MS	Adição de Fe(III) melhorou a eficiência da PVG	SOUKAL; STURGEON; MUSIL, 2018
Au, Ir, Pd, Pt e Rh	Água do mar	ICP-MS	Adição de Cu(II) melhorou a eficiência da PVG para Rh e Ir	OLIVEIRA; BORGES, 2018
Hg	Água de rio e lago	GFAAS	Pré-concentração <i>in situ</i> com nanotubos de Au depositados no tubo de grafite	HE et al., 2015
Co, Ni e Te	Bebidas alcoólicas	ICP-MS	Eficiência de introdução da amostra de 70% com PVG e 2% com nebulização	QUADROS; BORGES, 2014
Se	Suplemento dietético	QTAAS	Uso de nano-TiO ₂ como fotocatalisador para redução de Se(IV) e Se(VI) a Se(0)	NOVÁKOVÁ; CERVENY; HRANICEK, 2017
Cl	Folhas de pomar	ICP-MS	Adição de Cu(II) melhorou a eficiência da PVG	HU et al., 2018
Ni	Água natural e nanotubos de carbono	MIP-OES	Sensibilidade 83 vezes maior em comparação com a nebulização	LI M. et al., 2018

Tabela 3 – Aplicações da PVG acoplada a diferentes técnicas espectrométricas de detecção (Continuação).

Elemento(s)	Amostra(s)	Técnica	Comentário	Referência
Hg	Água de produção de petróleo	ICP-OES	Uso de dois GLS e lâmpada de 17 W como reator fotoquímico	FRANCISCO BARBARA et al., 2016
As, Bi, Hg, Sb, Se e Te	Água de lago, água potável e músculo de peixe	ICP-MS	Lâmpada UV-C alocada dentro de um cilindro oco de PTFE	ROMANOVSKIY et al., 2018
As, Sb, Bi, Se, Te, Hg, Ni, Co, Fe e I	Proteína e tecido hepático de peixe	ICP-OES	Uso de reator fotoquímico de filme fino com lâmpada UV em formato espiral	ZHENG et al., 2010a
Co e Ni	Plantas medicinais	ICP-OES	Sistema em <i>dual mode</i> CVG/PVG para a determinação de Cd, As e Ge por HG	SHEN et al., 2015
Se	Água de coco	GFAAS	Pré-redução de Se através de um espiral de quartzo revestido com nano-TiO ₂	PONTES et al., 2019
Br	Farinha de arroz, carvão betuminoso e água subterrânea	ICP-MS	Aumento na sensibilidade de 21 vezes para Br na presença de NH ₄ Cl	STURGEON, 2015
Hg	Cabelo humano	AFS	Pré-concentração <i>in situ</i> do Hg utilizando dietilditiocarbamato	GAO et al., 2011
Ni	Solo	QTAAS	GLS assistido por banho ultrassônico	BUYUKPINAR et al., 2017

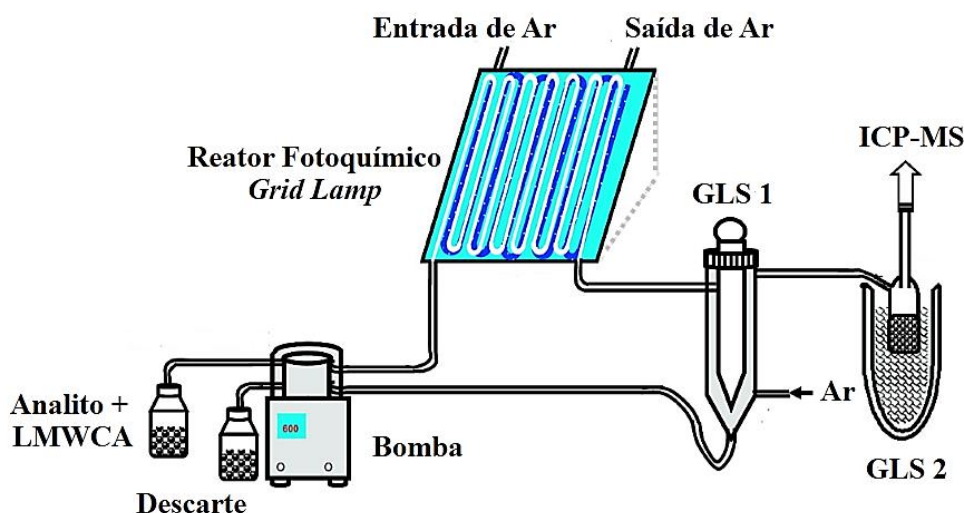
Tabela 3 – Aplicações da PVG acoplada a diferentes técnicas espectrométricas de detecção (Conclusão).

Elemento(s)	Amostra(s)	Técnica	Comentário	Referência
Hg	Vacina humana e veterinária	ICP-OES	Sem tratamento da amostra, apenas diluição e adição de ácido fórmico Ni(CO) ₄ gerado na PVG evitou	DOS SANTOS et al., 2010
Ni	Cabelo humano	DBD-OES	totalmente a extinção do microplasma do DBD em relação a geração de hidretos	CAI et al., 2014
Se	Nanopartículas para suplementação alimentar	MIP-OES	Determinação rápida e seletiva em meio a ácido acético 15% v v ⁻¹	BARTOSIAK; GIERSZ; JANKOWSKI, 2019
Ni	Lodo oleoso proveniente de estação petroquímica	ICP-MS	Calibração por diluição isotópica para diminuição de interferências	SALVADOR; SOARES; BORGES, 2018
Cu	Tecido biológico de ostra	ICP-MS	Condição otimizada com ácido fórmico 60% v v ⁻¹	GAO et al., 2016
Os	Água de rio, mar e mineral	ICP-MS	NH ₄ OH 5% v v ⁻¹ mostrou-se eficiente para eliminação do efeito de memória	GAO et al., 2017
Hg	Água potável, rio e lago	AFS	Avaliou-se 7 configurações de reatores fotoquímicos	QIN et al., 2013
I	Leite em pó desnatado, folhas cítricas, tecido de ostra e solo	ICP-MS	Lâmpada UV de 6 W acoplada dentro de uma câmara de nebulização ciclônica	GRINBERG; STURGEON, 2009

Quatro configurações de sistema PVG-MIP-OES foram estudadas por Matusiewicz & Slachcinski (2013) para determinação de As, Bi, Sb, Se, Sn, Hg e Cd. Os autores avaliaram: (I) sistema com nebulizador de injeção direta acoplado a uma câmara de nebulização ciclônica combinada com uma lâmpada UV de 6 W do tipo *pen lamp* alocada verticalmente, (II) lâmpada germicida UV de 15 W com percurso de PTFE e nebulizador concêntrico e câmara de nebulização ciclônica, (III) sistema em que o aerossol gerado por um nebulizador concêntrico sofria irradiação UV pela lâmpada de 15 W alocada do lado exterior a uma câmara de nebulização de duplo-passo de quartzo e (IV) um sistema com nebulizador ultrassônico equipado com a lâmpada de 6 W alocada na câmara de nebulização ciclônica. A configuração (IV) forneceu melhor eficiência devido ao efeito sinérgico da energia ultrassônica com a radiação UV, além da capacidade de microamostragem ($< 30 \mu\text{L}$). LOD's entre 11 a $15 \mu\text{g L}^{-1}$ foram obtidos com uso de ácido acético 40% v⁻¹. Para elementos como Bi e Hg, o LOD foi em torno de 10 a 15 vezes menor em comparação com a nebulização pneumática.

Uma configuração geométrica de reator fotoquímico foi avaliada por Zheng et al. (2010b) para determinação de Ni, Fe e Se por ICP-MS. Como ilustrado na Figura 6, o reator consistia em uma lâmpada UV quadrática de 17 W sob o qual foi posicionado um tubo de quartzo em formato de grade a fim de fornecer exposição máxima da solução às regiões de descarga mais intensa da lâmpada. Com o uso desse reator fotoquímico foi possível alcançar um LOD de 28 a 150 vezes menor em comparação com o sistema de introdução de amostra por nebulização pneumática. O método se mostrou 27 a 355 vezes mais sensível.

Figura 6 – Sistema PVG com lâmpada UV-C do tipo *Grid Lamp*.



Fonte: ZHENG et al., 2010b.

Soukal, Sturgeon & Musil (2018) avaliaram a geração de espécies voláteis de Mo utilizando uma lâmpada de fluxo interno de 19 W e uma lâmpada germicida de 15 W com percurso a base de PTFE. Nenhum sinal no ICP-MS foi obtido com a lâmpada germicida utilizando 30% v v⁻¹ de ácido fórmico. Apenas uma resposta de 0,05% de eficiência com PTFE foi alcançada com uso de 50% v v⁻¹ de ácido fórmico para este reator. No mesmo estudo, a otimização do sistema PVG foi alcançada com tempo de irradiação de 38 s, 30% v v⁻¹ de ácido fórmico e fluxo de gás carreador de 100 mL min⁻¹. Os autores assumiram que a espécie gerada foi Mo(CO)₆ devido à alta estabilidade do composto e semelhança química com a PVG de metais como Ni e Co. O mecanismo sugerido para formação de Mo(CO)₆ baseia-se na redução sequencial multieletrônica do Mo(VI) para Mo(0) por ação de radicais [•]CO₂⁻ seguida pela rápida captação dos átomos de Mo(0) pelo [•]CO derivado da fotólise do ácido fórmico. Em um trabalho de Hu et al. (2019), utilizou-se da Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica para identificar os principais radicais gerados na fotólise do ácido fórmico, com o intuito de explorar detalhadamente o mecanismo de geração de espécies voláteis de Mo. Concluiu-se que as espécies [•]OH e [•]CO₂⁻ foram os principais radicais livres produzidos a partir do ácido fórmico irradiado com UV, indo de acordo com o proposto por Soukal, Sturgeon & Musil (2018), que indicaram a participação de [•]CO₂⁻ na reação fotoquímica.

Técnicas de pré-concentração e uso de nanopartículas fotocatalisadores também são aplicáveis com a PVG. Oreste et al. (2017), por exemplo, determinaram o teor de Hg em combustível etanoico por PVG-CVAAS utilizando uma coluna de ouro para pré-concentração das espécies voláteis de Hg e uma lâmpada de 15 W como reator fotoquímico. O método mostrou-se 250 vezes mais sensível do que o método sem pré-concentração. Recuperou-se 91% de Hg nos combustíveis e um LOD de 0,01 ug L⁻¹ foi alcançado. Apenas com a coluna de ouro foi possível obter sinais reprodutíveis abaixo de 0,2 ug L⁻¹ de Hg. Jia et al. (2019) utilizaram nanopartículas de Fe e 1,3,5-benzenotricarboxílico (Fe-BTC), como um método de extração em fase-sólida e eliminação do efeito de matriz para a determinação de Bi(III) em amostras como solos, sedimento, ligas metálicas e águas naturais utilizando a técnica hifenada de PVG-ICP-MS. Neste estudo, íons Cu(II), Ni(II) e Fe(III) não causaram interferências significativas. Foi possível obter um LOD de 0,3 ng L⁻¹ que foi reduzido para 0,04 ng L⁻¹ depois de uma repetição de 10 vezes na etapa de pré-concentração. As nanopartículas de Fe-BTC apresentaram uma fotocatalise de 25 a 100 vezes maior em comparação com nanopartículas de Cu-BTC, TiO₂ e Fe₃O₄.

Alguns cátions metálicos também podem atuar como fotosensibilizadores na cinética da reação proporcionando aumento na eficiência da PVG. Porém, vale ressaltar que as vias mecanísticas para a atuação de íons fotocatalisadores em PVG ainda são pouco exploradas na literatura. Especula-se que os intermediários de radicais livres iniciados pela decomposição de LMWOAs podem acelerar a reação e aumentar a transferência de carga ligante-metal (LMCT) sob irradiação UV.

Yu et al. (2018) desenvolveram um procedimento analítico para determinação de Bi(III) em água, solo e sedimento por PVG-ICP-MS e aplicação de Fe(III) como fotosensibilizador. No mesmo estudo, a otimização da PVG de Bi(III) foi alcançada com uma mistura de ácido fórmico 5% v v⁻¹ e ácido acético 20% v v⁻¹, 13 s de irradiação, fluxo de gás carreador a 950 mL min⁻¹ e pH 2,0 a 3,5. O método foi 30 vezes mais sensível em comparação com a nebulização pneumática, com recuperação de mais de 95% em amostras de água doce e LOD de 0,3 ng L⁻¹. O uso de 60 µg mL⁻¹ de íons Fe(III) aumentou em 100% a resposta do sinal para o Bi(III) e também a cinética de reação fotoquímica. Por meio da análise de GC-MS, os autores sugeriram que, por meio da reação fotoquímica, o principal produto formado a partir de Bi(III) foi a espécie (CH₃)₃Bi. Especulou-se que a presença de íons Fe(III) promoveu um LMCT no Bi causando a maximização da eficiência da reação fotoquímica. Na primeira etapa da reação, a fotólise do ácido fórmico promove por meio de seus radicais a redução de Bi(III) para Bi(0). Posteriormente, o Bi(0) é atacado por radicais [•]CH₃ oriundos da fotólise do ácido acético, gerando assim (CH₃)₃Bi gasoso.

Wang et al. (2016) também investigaram o uso de fotosensibilizadores a base de íons férricos de Fe(III), Fe(II) e Fe(CN)₆³⁻ no aumento da eficiência de geração de espécies voláteis para a determinação de traço de As(III) por PVG-AFS. A maior eficiência foi obtida com adição de 15 mg L⁻¹ de Fe(III) em 100 µg L⁻¹ de As(III). Devido à instabilidade de reagentes com Fe(II) e a alta estabilidade do complexo Fe(CN)₆³⁻ que implica em menor quantidade de íons férricos livres, tais reagentes foram descartados para otimização. Na ausência do fotosensibilizador, a resposta de As(III) foi inferior a um décimo da resposta com Fe(III). A otimização foi alcançada com uma mistura de ácido acético 20% v v⁻¹ e ácido fórmico 4,0% v v⁻¹, 30 s de irradiação e fluxo de gás carreador de 200 mL min⁻¹. O método apresentou LOD 10 vezes menor quando comparado com HG-AFS. Taxas de recuperação de As(III) de até 98% foram obtidas com análise de amostras de água potável, rio e de lago.

Foi possível verificar por um estudo de Gao et al. (2015b) que os íons Co(II) e Ni(II) proporcionaram uma melhora significativa na PVG de Pb em meio a ácido fórmico 5% v v⁻¹. A presença de Fe(III) e de Co(II) na amostra resultou em um sinal para Pb de seis e duas vezes

menor em comparação com a presença de Ni(II), respectivamente. Com uma lâmpada UV de fluxo interno, 4 min de irradiação e fluxo de gás carreador no GLS de 330 mL min^{-1} , foi possível obter resultados satisfatórios com RSD menor do que 0,4% para a determinação de Pb por ICP-MS em amostras de águas naturais e sedimentos marinhos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

4.1.1 Reatores Fotoquímicos

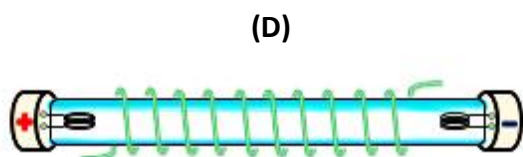
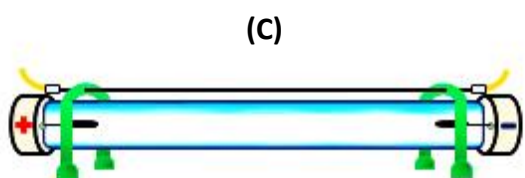
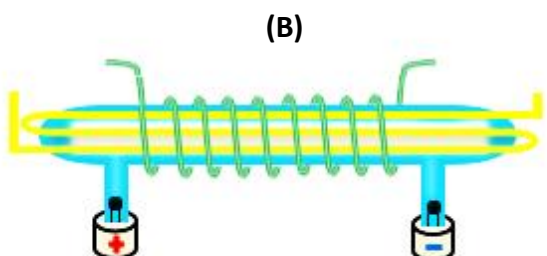
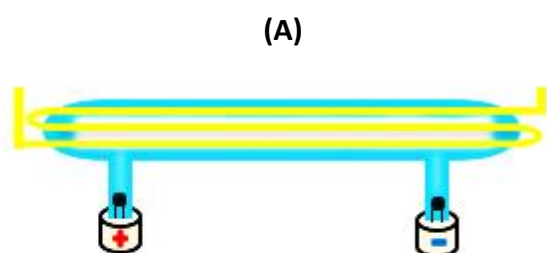
Para a geração de espécies voláteis de Hg e determinação de HgT por PVG-CVAAS, avaliou-se a eficiência de 4 configurações de diferentes reatores fotoquímicos a base de lâmpadas de radiação UV-C de Hg de baixa pressão. O primeiro reator (**A**) consistiu em uma lâmpada de 19 W de fluxo interno (Figura 7A) com percurso analítico de quartzo sintético situado no eixo central e interior da lâmpada, com dimensão de 31,5 cm de comprimento e 760 uL de volume interno (Beijing Titan Instrument Co., Pequim, China). O reator emite radiação no comprimento de onda de 185 e 254 nm e irradiação em 360°. A lâmpada é dobrada nas extremidades, possuindo um eletrodo localizado em cada uma destas. Para o segundo reator (**B**) empregou-se a mesma lâmpada de 19 W e, em vez de ser utilizado o percurso analítico de quartzo, utilizou-se uma tubulação de PTFE de 60 cm de comprimento, 2,0 mm de diâmetro interno e 869 uL de volume interno enrolada do lado externo do corpo da lâmpada (Figura 7B).

Uma lâmpada de 15 W do tipo germicida (Lucmat Lamps, Brasil) de 45 cm de comprimento, com irradiação no comprimento de onda de 254 nm foi utilizada como o terceiro reator (**C**). A lâmpada foi equipada com um tubo capilar de quartzo sintético para percurso analítico de dimensões de 41 cm de comprimento, 2,2 mm de diâmetro interno e 1,65 mL de volume interno (Figura 7C).

Para o quarto reator fotoquímico (**D**) empregou-se uma lâmpada de 15 W germicida (VL-215.G, Vilber, Alemanha) de 45 cm de comprimento operando com irradiação de 254 nm. Para este reator, o percurso analítico constituiu-se de uma tubulação de PTFE de 50 cm de comprimento, 2,0 mm de diâmetro interno e 800 uL de volume interno, na qual foi enrolada ao redor da lâmpada em formato de espiral (Figura 7D).

Algumas precauções de segurança foram tomadas em relação ao uso das lâmpadas de fonte UV. Para a proteção do operador contra a radiação e devido aos graves danos que podem ser provocados na visão e na pele, os reatores foram cobertos com um revestimento de alumínio. Sistema adequado de ventilação no ambiente laboratorial foi utilizado para evitar exposição as espécies voláteis. A temperatura dos reatores foi monitorada por meio de um termopar de Ni/Cr (TES Electrical Electronic Corp.). Antes de cada experimento, esperou-se 10 min para a estabilização da radiação UV.

Figura 7 – Reatores Fotoquímicos: (A) reator de 19 W de fluxo interno; (B) reator de 19 W com percurso de PTFE; (C) reator de 15 W com percurso de quartzo; (D) reator de 15 W com percurso de PTFE.



Fonte: próprio autor.

4.1.2 Separadores Gás-Líquido

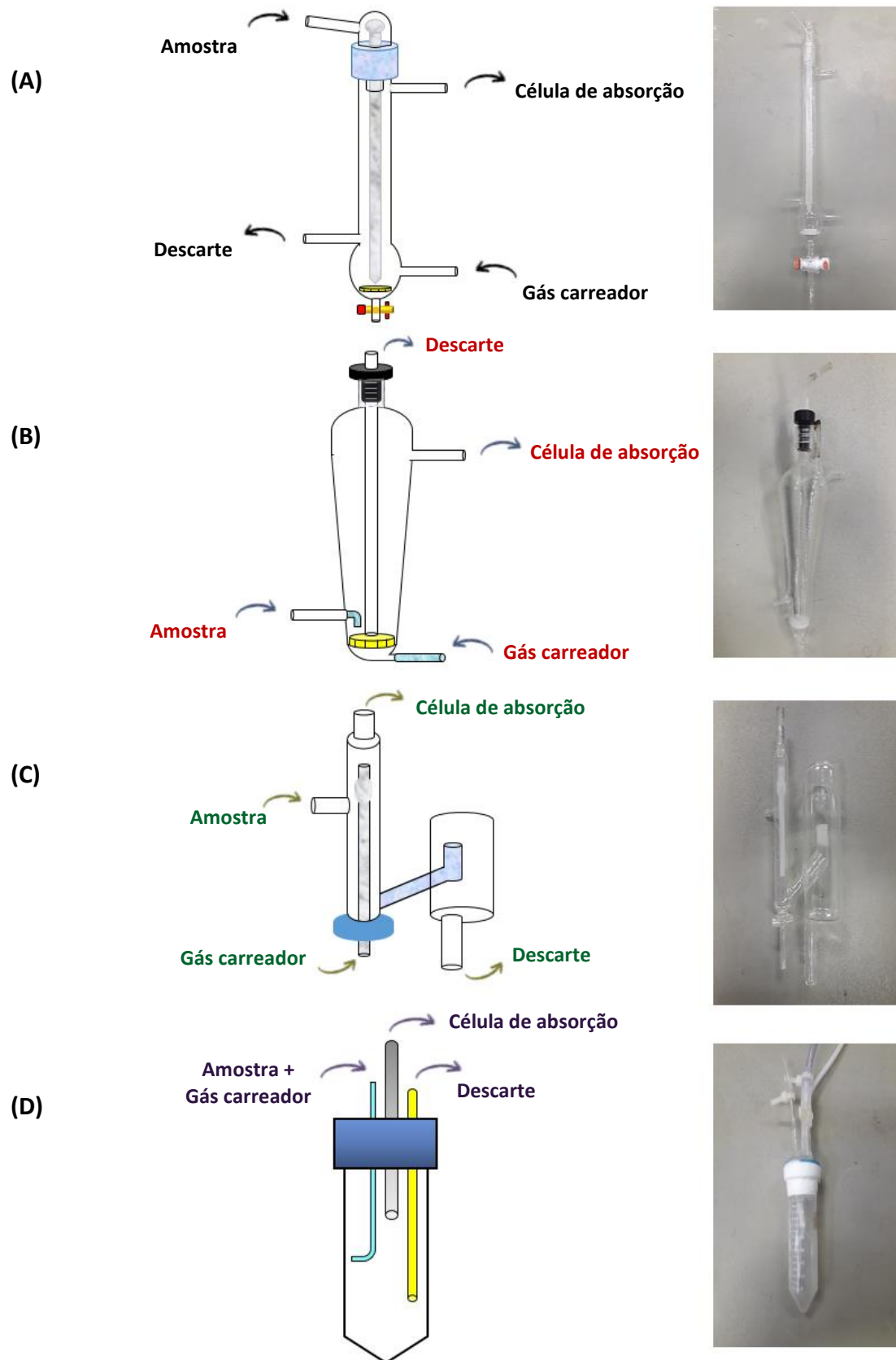
Para a separação das espécies voláteis de Hg da fase líquida avaliou-se inicialmente a eficiência de 4 configurações de diferentes GLS's acoplados ao reator fotoquímico. Investigou-se um GLS (**A**) com dimensão de 37,5 cm de comprimento e equipado com uma haste cilíndrica central de material inerte e por uma frita porosa de vidro sinterizado situado na parte inferior do instrumento. A amostra que é transportada para este GLS percola pela haste de modo que se produza uma fina película de líquido, isto na presença de uma contracorrente de gás carreador (Figura 8A). Este GLS foi cedido para este estudo pelo Dr. Ralph E. Sturgeon da *National Research Council Canada* (NRC-CNRC, Ottawa, Canadá).

O segundo GLS (**B**) possui 23 cm de comprimento e, análogo ao GLS (**A**), é equipado por uma larga frita porosa de vidro sinterizado localizado na parte inferior do separador. O gás carreador do GLS (**B**) passa através da frita porosa para que seja realizado a separação das espécies voláteis da fase líquida por borbulhamento como ilustrado na Figura 8B. Este separador também foi cedido pelo Dr. Ralph E. Sturgeon.

Um terceiro GLS (**C**) comercial (Agilent Technologies) apresenta tamanho reduzido em comparação aos outros dois, com 9,5 cm de comprimento (Figura 8C). Neste separador a fase líquida é transportada para outro compartimento para que seja realizado o descarte.

O quarto separador (**D**), denominado de *labmade*, foi confeccionado no próprio laboratório utilizando um tubo de polipropileno de 50 mL para centrífuga do tipo Falcon[®], semelhante ao confeccionado por Soukal, Sturgeon & Musil (2018). Para este separador, a tampa do tubo foi provida de três entradas como ilustrado na Figura 8D. Em uma das entradas, a fase líquida (amostra) foi pulverizada pela corrente de gás carreador na parede do tubo e na metade da altura do separador. Uma conexão em forma de “T” conectada entre a bomba peristáltica e este GLS foi utilizada para a entrada do gás (Figura 9). Os separadores (**A**), (**B**) e (**C**) possuíam entradas específicas de gás, não sendo necessário o uso da conexão em “T”. Em outra entrada deste GLS utilizou-se um tubo capilar de quartzo (cor em amarelo) para o transporte do resíduo. Já na entrada situada no meio da tampa, as espécies voláteis de Hg(0) foram transportadas pelo fluxo de gás carreador, vindo da conexão em “T”, para a célula de absorção de quartzo. Um volume morto de 10 mL foi mantido neste separador.

Figura 8 – Separadores Gás-Líquido: (A) separador de filme fino; (B) separador com frita porosa; (C) separador de dimensões reduzidas; (D) separador *labmade*.



Fonte: próprio autor.

4.1.3 Arranjo instrumental do sistema PVG-CVAAS

Neste sistema, as amostras foram introduzidas em modo de fluxo contínuo no reator fotoquímico por meio de uma bomba peristáltica eletrônica programável de 4 canais (Minipuls® 3, Gilson). Após as amostras serem irradiadas, estas foram transportadas para o GLS. Utilizou-se a mesma bomba para o descarte de resíduo contido no separador. Tubos de transmissão de Tygon® de polietileno de vários diâmetros foram utilizados para impulsionar os fluídos. As medidas de absorção de Hg foram realizadas por meio de um espectrômetro de absorção atômica (Varian AS 240FS, Mulgrave, Austrália), equipado com lâmpada de deutério para correção de fundo e uma lâmpada de catodo oco (HCL) de Hg (Agilent Technologies) como fonte de radiação. As condições operacionais estão dispostas na Tabela 4.

Uma célula de absorção de quartzo de 18 cm de comprimento e com 1,8 cm de diâmetro interno foi posicionada sobre o queimador, disposta no caminho ótico e mantida à temperatura ambiente. Para a linha de transferência entre o GLS e a célula de absorção utilizou-se uma tubulação de PTFE de 20 cm de comprimento. As espécies voláteis de Hg foram carregadas do separador para a célula de absorção por meio de um fluxo contínuo de gás N₂ (99,996%, White Martins, São Paulo, Brasil) controlado através de um fluxímetro (VFA-22, Hygro-Therm). A aquisição do sinal foi realizada no modo transiente e de forma integrada. A Figura 9 apresenta o sistema completo de PVG-CVAAS para a geração das espécies voláteis de Hg, bem como para a determinação de HgT.

Tabela 4 – Condições operacionais do espectrômetro de absorção atômica.

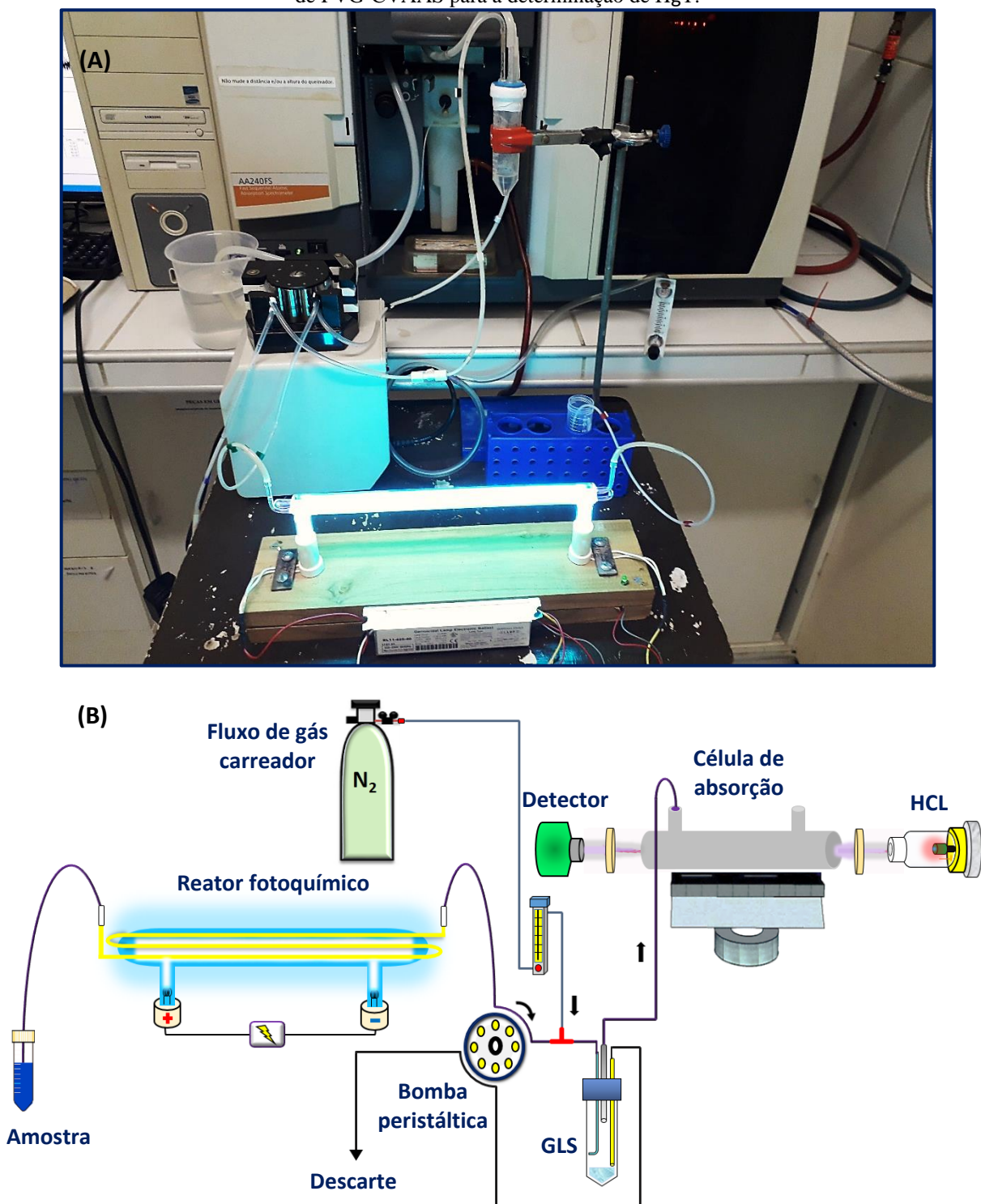
Parâmetros Instrumentais	AAS
Comprimento de onda (nm)	253,7
Abertura da fenda (nm)	0,5
Corrente da lâmpada (mA)	4,0
Número de leituras	5

Fonte: próprio autor.

Para a obtenção do sinal analítico para o Hg empregou-se primeiramente o método univariado. Portanto, investigou-se os três principais parâmetros experimentais da PVG que são

o tipo e concentração de precursor orgânico (ácido fórmico ou ácido acético, 2-50% v v⁻¹), tempo de irradiação da amostra (4-30 s) e fluxo de gás carreador (50-800 mL min⁻¹). Avaliou-se também o pH do meio e reatores e GLS com configurações diferentes. Para isto, utilizou-se soluções de trabalho de Hg(II) em uma concentração de 10 ug L⁻¹.

Figura 9 – (A) Sistema instrumental de PVG-CVAAS; (B) Diagrama esquemático dos componentes do sistema de PVG-CVAAS para a determinação de HgT.



Fonte: próprio autor.

4.2 Planejamento Experimental

Para observar a influência de cada variável, as interações entre estas e para a geração de um modelo matemática que descrevesse o conjunto de dados, aplicou-se ferramentas quimiométricas de planejamento e otimização de experimentos. Realizou-se um Planejamento Composto Central de Face Centrada (FCCD) do tipo 2^3 com base nos resultados do estudo univariado. Desta forma, o planejamento consistiu em um total de 17 ensaios, sendo um planejamento fatorial 2^3 com oito ensaios, mais 6 pontos axiais ($\alpha = \pm 1,0$) e 3 pontos centrais no intuito de estimar o erro experimental, totalizando em 17 ensaios ($2^3 + 6$ pontos axiais + 3 pontos centrais). As variáveis independentes estudadas foram: concentração de ácido fórmico, tempo de irradiação da amostra e fluxo de gás carreador (Tabela 5). Utilizou-se o valor de absorvância como a variável resposta ou dependente.

Tabela 5 – Variáveis e níveis do planejamento experimental.

Variáveis	Símbolos	Níveis e código das variáveis		
		-1	0	+1
Concentração de Ácido Fórmico (% v v ⁻¹)	X₁	2	6	10
Tempo de Irradiação (s)	X₂	4	7	10
Fluxo de Gás Carreador (mL min ⁻¹)	X₃	50	125	200

Fonte: próprio autor

Para cada ensaio do planejamento utilizou-se soluções amostra de 10 ug L⁻¹ de Hg(II). Após a cada leitura, utilizou-se apenas água ultrapura para limpeza do sistema e eliminação do efeito de memória. Para evitar a distorção estatística dos resultados e erros sistemáticos, a ordem de realização dos ensaios foi de forma aleatória. Todos os experimentos, menos os pontos centrais, foram realizados em duplicata. A tabela 6 apresenta a matriz do planejamento e os níveis estudados para cada variável. Na matriz indica-se pelo código -1 o nível mínimo, +1 o nível máximo e 0 o ponto central.

A validação do modelo empírico foi realizada através da análise de variâncias (ANOVA) a um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$), bem como com o gráfico de valores

observados versus valores previstos e o gráfico de resíduos. Para o tratamento, análise dos dados do planejamento e cálculos matemáticos, utilizou-se o software STATISTICA® 6.0 (StarSoft, Tulsa, OK, EUA).

Tabela 6 – Matriz para o Planejamento Composto Central de Face Centrada.

		Variáveis		
	Ensaio	X ₁	X ₂	X ₃
Planejamento Completo	1	-1	-1	-1
	2	+1	-1	-1
	3	-1	+1	-1
	4	+1	+1	-1
	5	-1	-1	+1
	6	+1	-1	+1
	7	-1	+1	+1
	8	+1	+1	+1
Pontos Axiais	9	-1	0	0
	10	+1	0	0
	11	0	-1	0
	12	0	+1	0
	13	0	0	-1
	14	0	0	+1
Pontos Centrais	15	0	0	0
	16	0	0	0
	17	0	0	0

Fonte: próprio autor.

Um modelo quadrático polinomial de segundo grau foi desenvolvido por meio de uma regressão linear múltipla para descrever a função matemática do planejamento e para análise da relação entre a resposta e as variáveis significativas (Equação 13):

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

onde Y é a absorvância, X_i é as variáveis, b_i é o coeficiente linear ou os coeficientes da função de resposta para os parâmetros do processo, b_{ii} é a resposta quadrática, b_{ij} é o coeficiente de

interação de primeira ordem e b_0 é o erro aleatório. Aplicou-se também a metodologia de superfície de resposta (MSR) a fim de gerar gráficos de superfícies para a otimização da resposta e análise da influência das variáveis.

4.3 Reagentes e amostras

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico. Utilizou-se água ultrapura (resistividade 18,2 M Ω cm), purificada por um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA) para o preparo das soluções. As soluções amostra de trabalho de Hg(II) foram preparadas por diluição de uma solução estoque de 1000 mg L⁻¹ de Hg(II) (Across Organics, Geel, Bélgica). Ácido fórmico (98%, P.A, Sigma Aldrich, Missouri, EUA) e ácido acético (99%, P.A, Synth, Brasil) foram utilizados como precursores fotoquímicos sem purificação prévia. Para ensaios de pH, utilizou-se H₂SO₄ (98%, P.A, Vetec, Brasil) para acidificação e NH₄OH (25%, P.A, Synth, Brasil) para o aumento do pH do meio. Todas as vidrarias, frascos cônicos de polipropileno e demais utensílios de laboratório foram descontaminados através de imersão em banho de ácido nítrico 10% v v⁻¹ por 24 horas. Depois, os materiais foram lavados com água ultrapura e, em seguida, secos à temperatura ambiente.

4.4 Preparo da amostra para análise por PVG-CVAAS

Dez amostras de alimentos enlatados de diferentes lotes e marcas especificadamente para gatos (Figura 10) e com ingrediente a base de atum e frutos do mar, foram obtidas em Pet Shops na cidade de Fortaleza (Ceará, Brasil).

Figura 10 – Amostras de alimentos à base de atum para gatos.

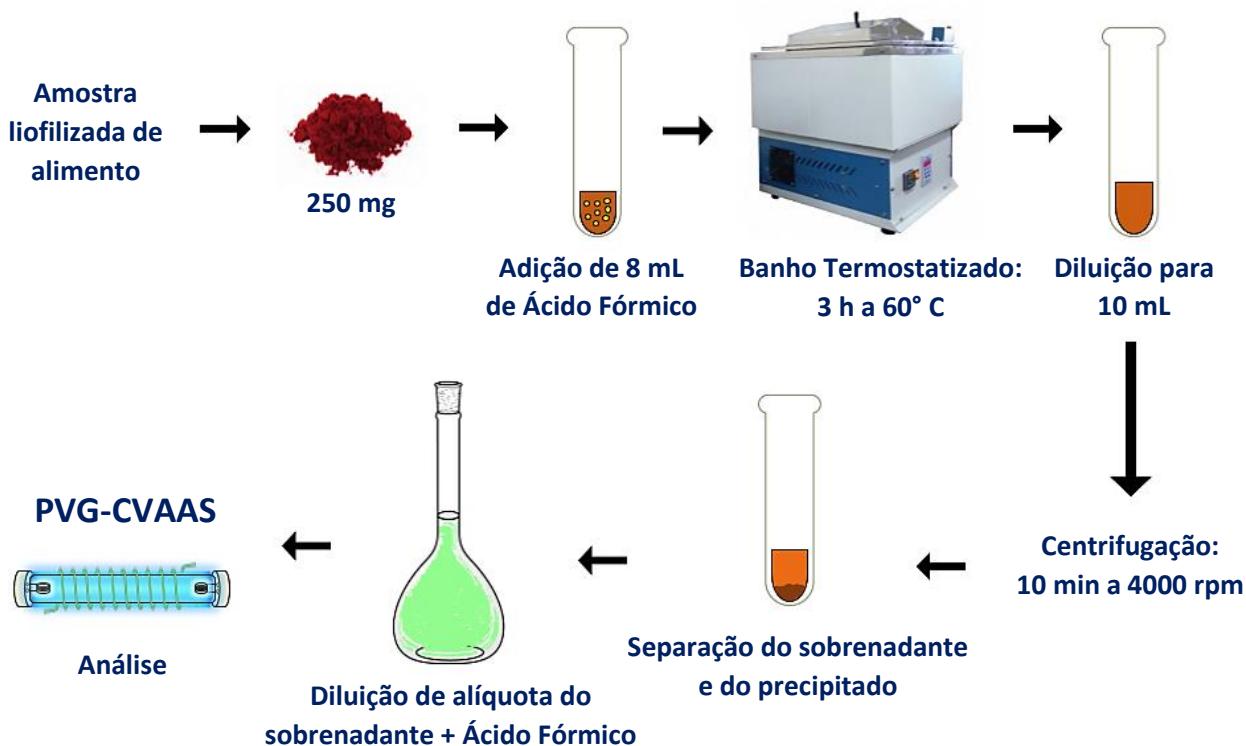


Fonte: próprio autor.

Para evitar a variabilidade das análises devido à mistura heterogênea, os alimentos foram amostrados em diferentes locais da lata em intervalos uniformes, lavados com água ultrapura, processados em liquidificador blender e homogêneos. Após isto, os alimentos foram congelados e subsequentemente liofilizados por 48 h (L101, Liobras®, Brasil). Por fim, as amostras foram maceradas e homogêneas com o auxílio de um almofariz e pistilo e estocadas a 4 °C.

Com adaptações da metodologia de Vieira et al. (2007) para o preparo de amostra, uma massa de 250 mg de amostra foi pesada em balança analítica (AND HR-200) e solubilizada em 8 mL de ácido fórmico 98% para a extração de Hg. A mistura foi submetida a um aquecimento brando a 60° C em banho termostático (MA-095, Marconi, Brasil) sem agitação por um período de 3 horas. Em seguida, esperou-se a mistura retornar a temperatura ambiente e diluiu-se para 10 mL com água ultrapura. Após isto, centrifugou-se durante 10 min a 4000 rpm (Eppendorf Centrifuge 5430). Após a etapa de centrifugação, separou-se o precipitado do sobrenadante. Para a análise por PVG-CVAAS, retirou-se uma alíquota do sobrenadante e diluiu-se por um fator de 17 vezes com água ultrapura e uma concentração de ácido fórmico a 10% v⁻¹. A Figura 11 ilustra resumidamente o procedimento utilizado no preparo de amostra para a extração e análise de Hg.

Figura 11 – Procedimento de preparo de amostra para extração de Hg.



Fonte: próprio autor.

4.5 Figuras analíticas de mérito

4.5.1 Estratégia de calibração

Para avaliar o efeito de matriz, duas estratégias de construção de curvas de calibração foram empregadas para o método PVG-CVAAS. A primeira estratégia de calibração consistiu em realizar o método do padrão externo, onde foi preparado soluções analíticas de Hg(II) com concentrações de 0, 1, 2, 5 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ em meio a 10% v v⁻¹ de ácido fórmico. Por causa da matriz complexa de alimento para gato a base de atum e devido à presença de proteínas, carboidratos, gorduras e alta concentração de elementos como Ca e P, amostras de alimento foram fortificadas com concentrações de 0, 1, 2, 5 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Hg(II) em meio a 10% v v⁻¹ de ácido fórmico e analisadas como método de adição de padrão. Os valores de absorbância para cada curva foram plotados a fim de verificar a relação linear entre a concentração e o sinal, bem como avaliar o efeito de matriz, comparando os coeficientes angulares de cada curva.

4.5.2 Limite de detecção e quantificação

A sensibilidade do método foi avaliada por meio da estimativa dos parâmetros de Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ). O LOD expressa a quantidade mínima detectável, mas não necessariamente quantificada, com uma dada certeza analítica e permite o reconhecimento de que a quantidade de analito na amostra é maior que a solução branco. Já o LOQ representa a menor concentração do analito em uma amostra que pode ser determinado com precisão e exatidão aceitáveis sob condições experimentais adotadas. O LOD e LOQ podem ser expressos com base nas definições da IUPAC e por meio das Equações 14 e 15 respectivamente:

$$\text{LOD} = \frac{3 \cdot \sigma}{S} \quad (14)$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \cdot \sigma}{S} \quad (15)$$

Onde: σ representa o desvio-padrão de 10 medidas consecutivas do branco e S representa o coeficiente angular da curva analítica.

4.5.3 Exatidão

A exatidão do método é o grau de concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. Materiais de referência certificados (CRM) de DOLT-3 (*Dogfish Liver*) e DORM-1 (*Fish protein*) obtidos do NRC foram utilizados para avaliar a exatidão. Os CRM's também foram submetidos ao mesmo procedimento de preparo de amostra descrito em seção anterior. Os valores encontrados nas amostras foram comparados ao certificado e a exatidão em termos de recuperação foi estabelecida pela relação (Equação 16) entre a concentração determinada experimentalmente e a concentração certificada.

$$\text{Recuperação(\%)} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração certificada}} \times 100 \quad (16)$$

4.5.4 Precisão

A precisão do método foi avaliado em termos de repetibilidade por meio do desvio-padrão relativo RSD(%). Portanto, determinou-se a precisão em função do desvio-padrão relativo por meio de 11 medidas de soluções a 2 ug L⁻¹ de Hg(II) de acordo com a Equação 17.

$$\text{RSD(\%)} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (17)$$

Onde: *s* é o desvio padrão da concentração das 11 soluções amostra e \bar{x} representa a média da resposta obtida.

4.5 Determinação da ingestão diária estimada de HgT

Para calcular a ingestão diária estimada de HgT para gatos de estimação, utilizou-se a Equação 18 (PAULELLI et al., 2018).

$$\text{IDE} = \frac{[\text{HgT}] \cdot M}{\text{PC}} \quad (18)$$

Nesta equação, o IDE representa a ingestão diária estimada (mg dia⁻¹ x kg pc) do elemento por kg de peso corporal (pc) do animal, já [HgT] significa a concentração média de HgT encontrado nos alimentos analisados no conjunto de amostra para gatos de estimação, M é a massa de alimento consumido diariamente e PC é o peso corporal em kg do gato. Para que

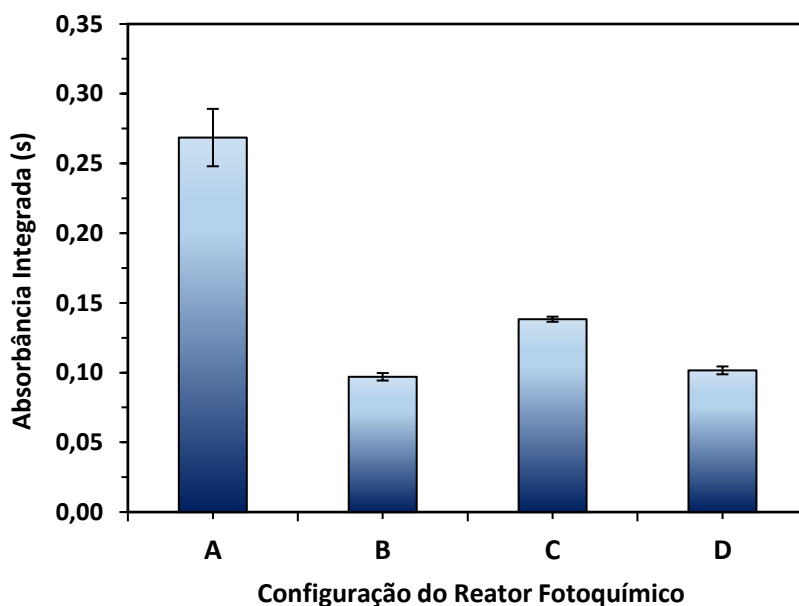
fosse realizado o cálculo do IDE de cada alimento no grupo de amostras, utilizou-se uma massa teórica de 0,150 kg de alimento consumido por dia por um gato adulto saudável com uma média de peso de 2,5 kg, baseando-se em dados de relatório britânico de pesos corporais e taxa de consumo de alimento por dia e por quilograma de peso corporal de animais (GBC 1996).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Influência do tipo de Reator Fotoquímico

A eficiência da geração de espécies voláteis de Hg por PVG depende crucialmente do modelo de reator fotoquímico, o que inclui o material do percurso analítico e o comprimento de onda de trabalho da lâmpada. Para o estudo do desempenho de cada reator e GLS, soluções de Hg(II) a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ em ácido fórmico 10% v v⁻¹ foram analisadas. O desempenho de 4 reatores está representado pela Figura 12. Entre os reatores examinados, o reator (A) forneceu uma maior resposta para o Hg. Isto se deve ao fato que o percurso analítico interno feito de quartzo recebe uma maior radiação UV do que a parte externa da lâmpada. Nesse reator ocorreu o aumento da descarga real ao redor do tubo de quartzo inserido na lâmpada de 19 W e há contribuição da irradiação em 360°. Como o reator (A) emite radiação em menor comprimento de onda (184 nm) e pela energia do fóton ser inversamente proporcional ao comprimento de onda ($E \propto 1/\lambda$), mais fótons energéticos incidem sobre a amostra, clivando um maior número de moléculas de ácido fórmico, gerando assim mais radicais para fotoredução do Hg.

Figura 12 – Avaliação de configurações diferentes de Reatores Fotoquímicos.



Fonte: próprio autor.

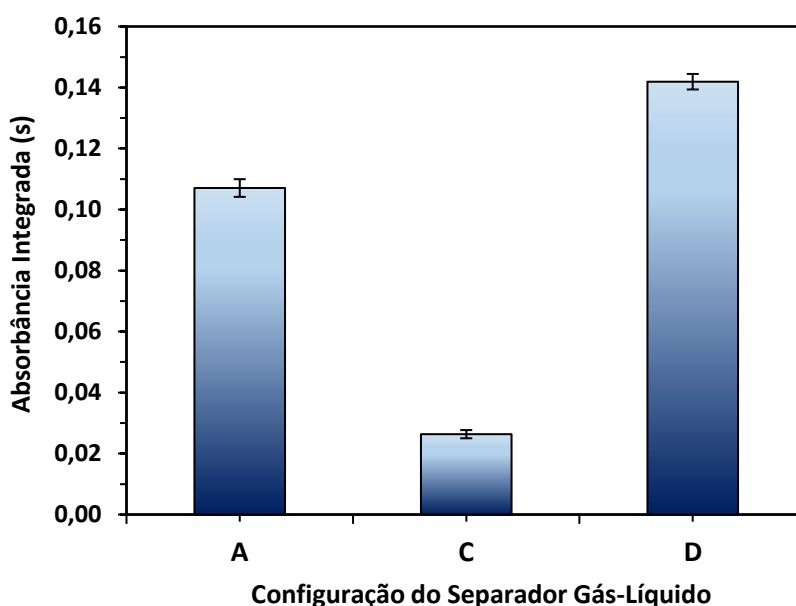
Valores menores de absorbância foram obtidos pelos reatores (B) e (D), devido a parcial transparência a 254 nm do PTFE e pelo material fornecer apenas um percentual de 5% de transmissão de radiação UV. Já o reator (C) apresentou maior resposta em relação aos reatores (B) e (D), devido à alta transparência do tubo de quartzo como percurso analítico e

maior penetração da radiação. No entanto, o reator (C) mesmo com uso do tubo de quartzo e acoplado a lâmpada germicida de 15 W, apresentou uma resposta 50% inferior em relação ao reator (A). Os reatores com percurso de PTFE apresentaram uma resposta de 62-64% inferior quando comparado com o reator (A). Estes resultados vão de acordo com o reportado por Qin et al. (2013), em que também foram avaliados reatores diferentes e o que apresentou maior eficiência para a geração de espécies voláteis de Hg por PVG-AFS foi o reator com percurso interior de quartzo, apresentando uma resposta 75% superior ao um reator de 19 W com percurso de PTFE. Portanto, para posteriores experimentos utilizou-se o reator (A).

5.2 Influência do tipo de Separador Gás-Líquido

Para a separação das espécies voláteis da fase líquida, avaliou-se inicialmente a performance de 4 configurações de GLS. As absorvâncias obtidas para cada separador são apresentadas na Figura 13.

Figura 13 – Avaliação de configurações diferentes de Separadores Gás-Líquido.



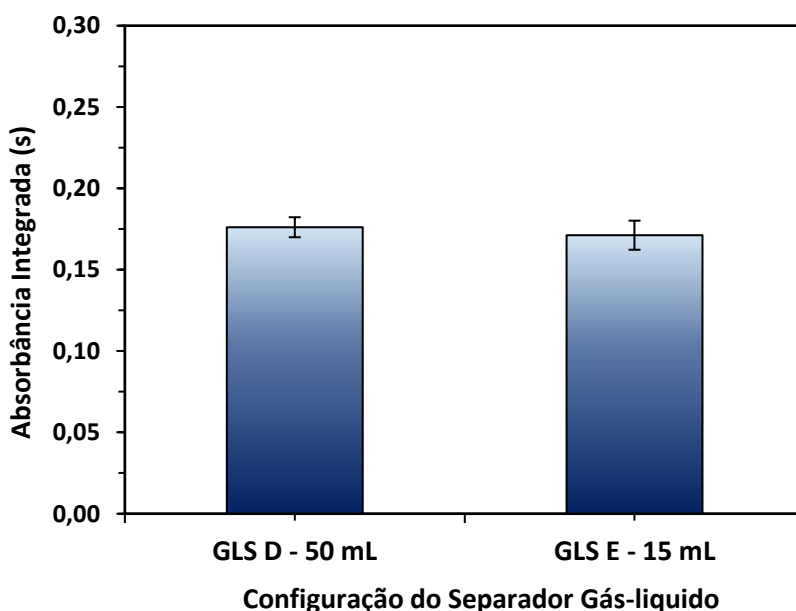
Fonte: próprio autor.

Observa-se que a maior eficiência foi com o uso do GLS (D), devido ao tamanho reduzido, bem como o acoplamento da conexão em “T”, fazendo com que as espécies voláteis já sejam separadas antes de serem introduzidas efetivamente no GLS. Devido ao grande volume do GLS (A), as espécies voláteis provavelmente ficaram adsorvidas nas paredes do mesmo, acarretando uma resposta 25% inferior em relação ao GLS (D). O grande tamanho também pode ter contribuído para a diluição da nuvem atômica. O GLS (A) depende de um fluxo de

uma fina película irradiada sobre uma grande superfície inerte e na presença de uma contracorrente de gás carreador. Com base em Sturgeon (2017), o uso do GLS (A) funciona para vapores de analitos muito hidrofóbicos, porém a taxa de fluxo da amostra é limitada pela taxa de separação de fases por difusão, caso contrário, a solução da amostra é expelida para o descarte antes que a separação possa ser concluída com eficiência.

O separador (B) apresentou alta formação de espuma devido à presença do ácido orgânico e pelo mecanismo de borbulhamento, tornando ineficaz a separação das espécies. Devido ao risco de introdução de espuma na célula de absorção, não foi possível realizar as medidas de absorção com o GLS (B). Constatou-se no GLS (C) que, devido a sua estrutura física e o mecanismo de funcionamento do mesmo, o gás carreador foi transportado para o descarte junto com a fase líquida, impedindo o transporte das espécies de Hg(0) para a célula de absorção, o que proporcionou ineficiência na separação e uma resposta de 81,4% inferior em relação ao GLS (D). A fim de verificar a influência do volume do separador construído por meio de um tubo de polipropileno na separação das espécies voláteis de Hg, confeccionou-se outro GLS utilizando um tubo Falcon® com volume interno de 15 mL (GLS E). Mediu-se a absorbância utilizando os dois GLS's (D e E), cujo resultado está ilustrado na Figura 14.

Figura 14 – Avaliação de Separadores Gás-Líquido de polipropileno com volumes internos diferentes.



Fonte: próprio autor.

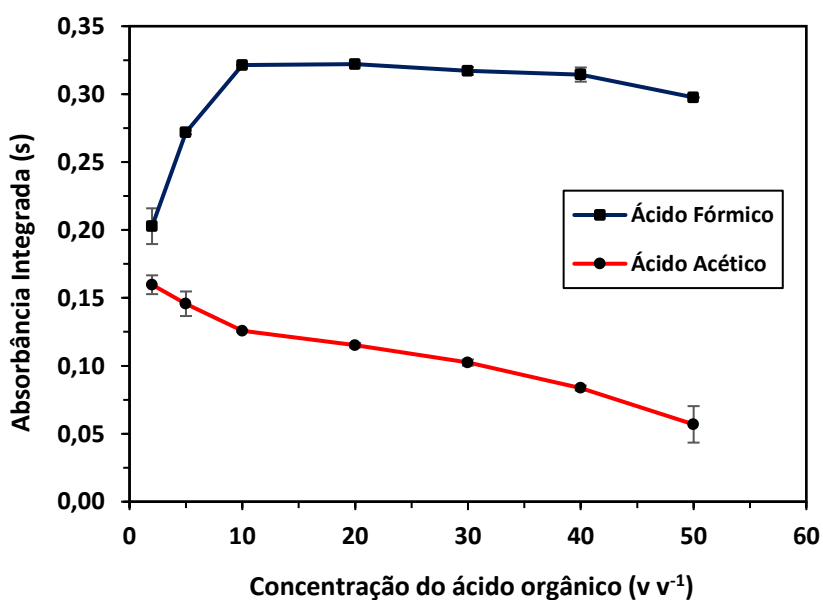
Observa-se que não houve diferença significativa quando se alterou o volume do GLS, inferindo-se que as espécies voláteis são eficientemente separadas utilizando ambos os

separadores. O GSL (D) apresentou uma absorvância apenas de 2,8% maior em comparação ao GLS (E). Portanto, para os demais experimentos selecionou-se o GLS (D).

5.3 Efeito da concentração de ácidos orgânicos

Após a escolha do reator fotoquímico e GLS, investigou-se o tipo e a concentração de precursor orgânico, em que os resultados estão apresentados na Figura 15. Observa-se pela Figura 14 que foi possível obter uma maior resposta para o Hg utilizando ácido fórmico como precursor orgânico em comparação com o ácido acético. Isto se deve ao fato que o ácido fórmico ao interagir com a radiação UV, produz uma concentração maior de radicais para promover a redução de Hg por meio da reação fotoquímica. Sem um claro entendimento e devido à falta de informações da literatura em relação a diferença de mecanismo de reação entre o ácido fórmico e o ácido acético, não é possível fazer mais comentários sobre a maior eficiência com ácido fórmico. Estes resultados vão de acordo com o de Gao et al. (2014), onde a eficiência de redução de Hg em cosméticos por PVG-ICP-MS também foi maximizada com ácido fórmico como precursor orgânico, obtendo uma resposta 5 vezes maior em comparação com ácido acético.

Figura 15 – Efeito do tipo e da concentração de ácidos orgânicos na resposta de soluções com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg(II). Condições experimentais: reator (A), GLS (D), 4 s de irradiação e fluxo de gás carreador a 50 mL min^{-1} .



Fonte: próprio autor.

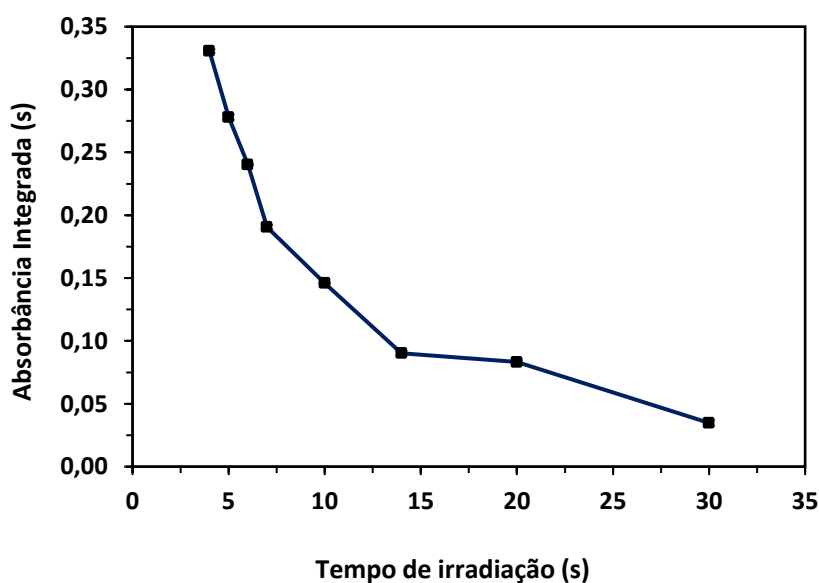
Um aumento de 50% na absorvância foi alcançado quando comparado a absorvância máxima obtida quando se utiliza ácido fórmico e a absorvância máxima obtida quando se utiliza ácido acético. A intensidade do sinal de Hg aumentou gradativamente com a

concentração de ácido fórmico em uma faixa de 2 a 10% v v⁻¹, permanecendo constante até 40 % v v⁻¹. De 2 a 10% v v⁻¹ ocorre aumento de 36,9% na absorbância. Com 50% v v⁻¹ observa-se um leve declínio no sinal, com redução de 7,4% em relação ao uso de 10% v v⁻¹ de ácido fórmico. Tal fator, pode ter ocorrido devido ao excesso do ácido, causando degradação das espécies radicalares e menor geração de vapor de Hg. Perfil semelhante foi obtido por He et al. (2015) na determinação de Hg em águas naturais por PVG-GFAAS, onde o máximo de resposta foi obtido e se manteve estável na faixa de 10 a 30% v v⁻¹ de ácido fórmico. Com ácido acético a absorbância máxima foi alcançada com a menor concentração do precursor (2% v v⁻¹), diminuindo expressivamente com o aumento da concentração em uma faixa de 5 a 50% v v⁻¹. De acordo com o gráfico, com a maior concentração de ácido acético ocorre diminuição na absorbância de 64,4% em relação a menor concentração. Selecionou-se ácido fórmico na concentração de 10% v v⁻¹ para posteriores experimentos.

5.4 Efeito do tempo de exposição à radiação UV

O tempo de irradiação UV foi investigado modificando a velocidade do fluxo de amostra que passa pelo reator fotoquímico. A Figura 16 apresenta os resultados obtidos variando o tempo de irradiação de 4 a 30 s.

Figura 16 – Efeito do tempo de irradiação na resposta para soluções com 10 ug L⁻¹ de Hg(II). Condições experimentais: reator (A), GLS (D), 10 % v v⁻¹ de ácido fórmico e fluxo de gás carreador a 50 mL min⁻¹.



Fonte: próprio autor.

Observa-se pela Figura 16 que o menor tempo de irradiação (4 s) foi suficiente para gerar a maior resposta entre a faixa estudada. Observa-se também que a mínima variação do tempo de residência da amostra no reator fotoquímico, em torno de 1 s, ocasiona uma diminuição significativa no valor da absorbância. De acordo com o gráfico, em 5 s de irradiação ocorre redução de 15,9% na absorbância em relação ao valor máximo. Já em 10 s, a perda no sinal é de 55,8%. Quando se utiliza o maior tempo de irradiação, 30 s, tem-se uma redução acentuada de 89,5% na absorbância em relação ao uso do menor tempo de irradiação.

Os resultados sugerem que em períodos mais longos de exposição à radiação UV, as espécies voláteis formadas por PVG são degradadas, podendo ter sido ocasionada pelo aumento da temperatura no sistema ou instabilidade das espécies formadas (QUADROS; BORGES, 2014). Em tempos maiores ou iguais a 20 s, notou-se a formação de bolhas ao longo dos tubos de transmissão. Segundo Jesus, Grinberg & Sturgeon (2016), uma maior concentração de produtos gasosos da fotólise do ácido fórmico como CO, CO₂ e H₂ são gerados em tempos mais longos de exposição utilizando a lâmpada de 19 W de fluxo interno. Com base nos mesmos autores, os produtos da fotólise do ácido fórmico se acumulam como numerosas bolhas expandidas no reator fotoquímico que são capazes de expelir a solução para o GLS sem antes atingir a exposição necessária a radiação UV.

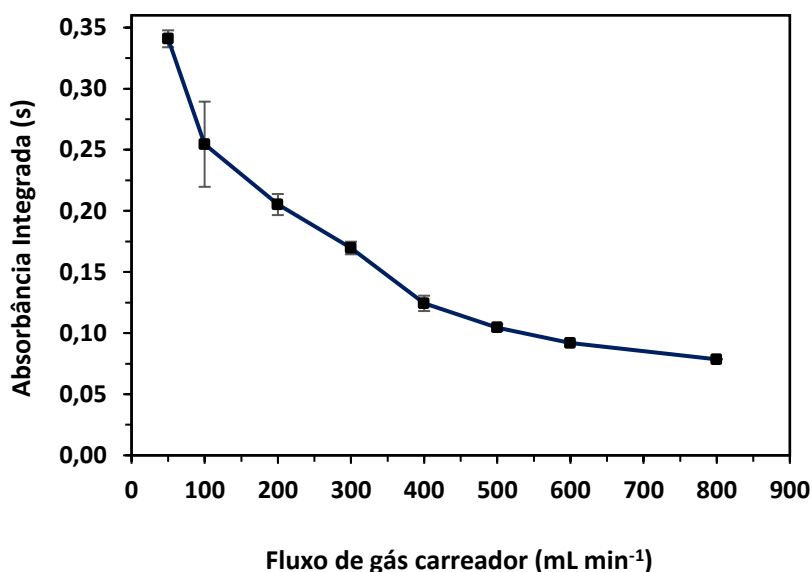
Tempo de exposição semelhante foi alcançado por Covaci et al. (2017), em que 5 s foi suficiente para a geração eficiente de radicais para a redução de Hg. Já para Da Luz Potes et al. (2016), um tempo de irradiação de 16 s foi necessário para uma maior absorbância na determinação de Hg em peixe por PVG-GFAAS utilizando uma lâmpada de 19 W. Em contrapartida, tempos de exposição maiores podem ser necessários para outros elementos utilizando o mesmo reator. Para Zhou et al. (2019) foi necessário 60 s de exposição para a geração de espécies de As(III) e As(V) por PVG-AFS. Para Gao et al. (2015b), um tempo ótimo de 4 min foi encontrado para a geração de espécies voláteis de Pb por PVG-ICP-MS. Isto demonstra que o sistema PVG de Hg possui rápida foto-cinética de geração de espécies voláteis em comparação a outros elementos. Selecionou-se 4 s como tempo de irradiação para posteriores experimentos.

5.5 Efeito do fluxo de gás carreador

A taxa de fluxo de gás carreador tem uma grande influência na eficiência de transporte do vapor atômico de Hg, permanência das espécies voláteis na célula de absorção, bem como na separação de fases proporcionada pelo GLS. A vazão de gás carreador foi

investigada em uma faixa de 50 a 800 mL min⁻¹. A Figura 17 mostra a influência do fluxo de gás carreador na resposta. É possível observar que na mais baixa vazão de gás (50 mL min⁻¹) obteve-se uma maior resposta, sugerindo uma liberação total e eficiente do analito para a fase gasosa.

Figura 17 – Efeito do fluxo de gás carreador na resposta para soluções com 10 ug L⁻¹ de Hg(II). Condições experimentais: reator (A), GLS (D), 10 % v v⁻¹ de ácido fórmico e tempo de irradiação de 4 s.



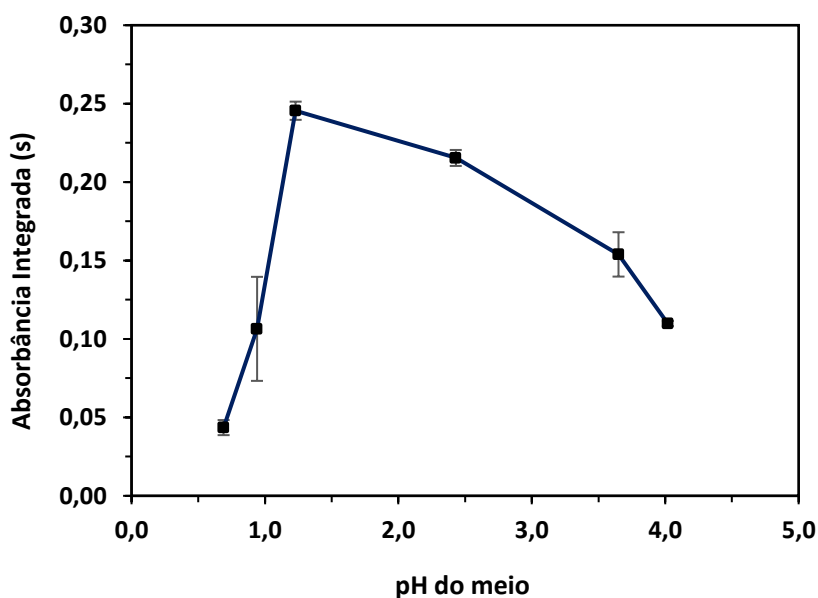
Fonte: próprio autor.

Pelo comportamento do gráfico, indica-se uma diminuição gradativa da absorbância à medida em que se aumenta o fluxo de gás. Quando se utiliza fluxo superior ou igual a 100 mL min⁻¹ ocorre perda significativa na resposta para o Hg. Isto se deve ao fato de que em maiores fluxos de gás ocorre diluição da nuvem atômica de Hg no gás transportador e menor tempo de residência na célula de absorção, resultando em perda de sensibilidade. Com base no gráfico, mesmo com um fluxo de 100 mL min⁻¹, há uma perda significativa de 25% na absorbância. De acordo com o comportamento do gráfico, utilizando um fluxo de gás 10 vezes maior (500 mL min⁻¹), a perda do sinal de absorbância é de 69,3%. Já com o maior fluxo de gás, 800 mL min⁻¹, ocorre perda significativa de 76,9%. Os resultados estão de acordo com o reportado na literatura. Viera et al. (2007) e Da Silva et al. (2012), por exemplo, utilizaram fluxos de gás de 56 e 52 mL min⁻¹ para separação de espécies voláteis de Hg por PVG-CVAAS, respectivamente. Para posteriores experimentos, selecionou-se o fluxo de gás carreador a 50 mL min⁻¹.

5.6 Efeito do pH do meio

O efeito do pH também pode ter influência na redução por PVG de íons metálicos para a geração de espécies voláteis. Eficiência baixa pode ser alcançada se o meio for muito ácido, já que a redissolução do elemento pode ocorrer se o analito gasoso gerado não for rapidamente separado da fase líquida pelo GLS. Em contraste, se o meio for bastante alcalino, os radicais hidroxila cogerados na reação fotoquímica podem facilitar reações de oxidação do analito ou podem formar hidróxidos insolúveis do metal (JESUS; GRINBERG; STURGEON, 2016). Os resultados do efeito do pH são apresentados na Figura 18.

Figura 18 – Efeito do pH do meio na resposta para soluções com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg(II). Condições experimentais: reator (A), GLS (D), 10 % v v⁻¹ de ácido fórmico, tempo de irradiação de 4 s e fluxo de gás carreador de 50 mL min⁻¹.



Fonte: próprio autor.

Para o aumento de pH por adição de NH_4OH , soluções com ácido fórmico foram colocadas em tubos de polipropileno e resfriadas em banho de gelo devido a reação exotérmica, onde o pH foi monitorado utilizando pHmetro (Tecnal). Utilizou-se H_2SO_4 para a diminuição de pH do meio. Observa-se que a maior resposta foi alcançada em pH 1,23. Este pH é o original da solução amostra em meio a 10% v v⁻¹ de ácido fórmico. De acordo com o comportamento do gráfico, em pH's mais ácidos ocorre perda de 56-82% na absorbância, possivelmente devido a re-oxidação do Hg(0) na presença de espécies de $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 e O_3 geradas pela radiação UV. Em pH 4,0, há perda de 55% no sinal. De acordo com Francisco Barbara et al. (2016), em pH's $\geq 4,0$, a diminuição de sinal também ocorre devido a radicais $\cdot\text{OH}$ que impedem a redução de

Hg(II) ou competem via reação de oxidação. Yin et al. (2012) também sugerem que em $\text{pH} \geq 4,0$ a interação de Hg(II) com LMWCA e radiação UV favorece processos de foto-alquilação do Hg(II), diminuindo a fração de vapor do elemento na forma atômica e aumentando a fração das formas alquiladas. Estas observações não são consistentes com o estudo de PVG de elementos como Fe, Ni e Co, onde o pH de máxima sensibilidade foi alcançado em uma faixa de 2,5-3,0 (ZHENG et al., 2010a). No entanto, os resultados são semelhantes com o de Francisco Barbara et al. (2016) em estudos de PVG de Hg utilizando ácido fórmico, em que a reposta máxima foi alcançada em pH 1,50. Para os demais estudos, não houve alteração de pH.

5.7 Planejamento Composto Central de Face Centrada

Com base nos resultados do estudo univariado, aplicou-se um planejamento FCCD para analisar estatisticamente o efeito das variáveis no sinal de absorbância do sistema PVG-CVAAS. Os resultados expressos em termos de absorbância são descritos na Tabela 7.

Tabela 7 – Resposta para o Planejamento Composto Central de Face Centrada (n = 2).

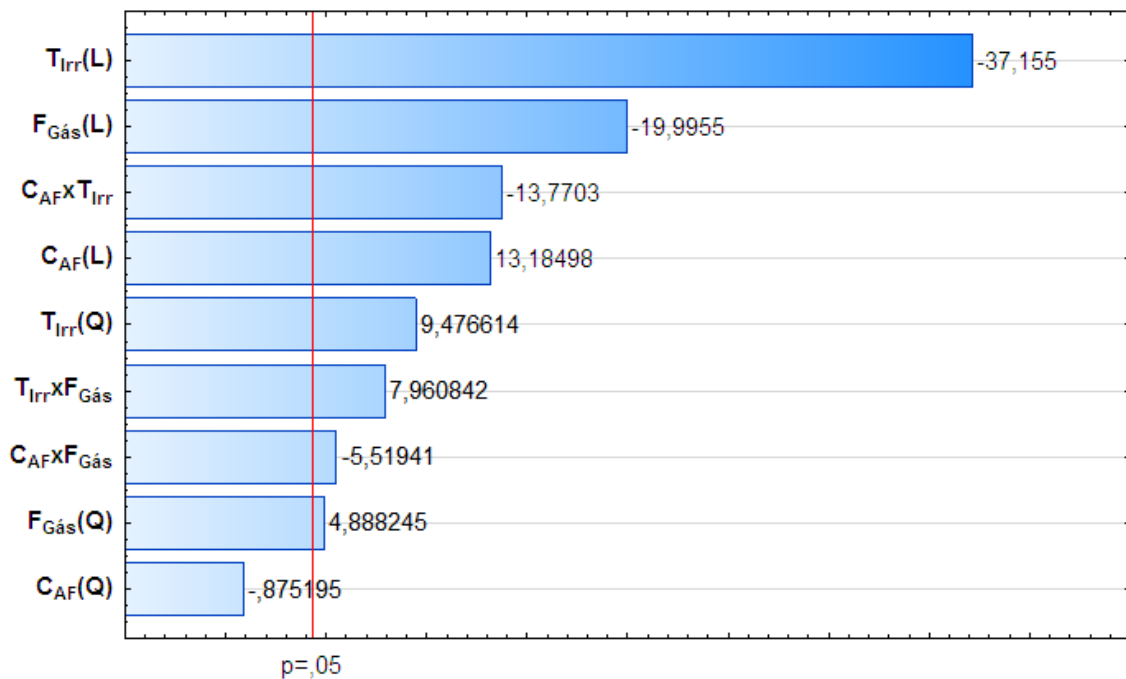
Ensaio	Variáveis			Absorbância
	X ₁	X ₂	X ₃	
1	-1	-1	-1	0,1625
2	+1	-1	-1	0,2857
3	-1	+1	-1	0,0968
4	+1	+1	-1	0,0957
5	-1	-1	+1	0,1162
6	+1	-1	+1	0,1664
7	-1	+1	+1	0,0611
8	+1	+1	+1	0,0646
9	-1	0	0	0,1307
10	+1	0	0	0,0856
11	0	-1	0	0,1720
12	0	+1	0	0,0689
13	0	0	-1	0,0891
14	0	0	+1	0,0963
15	0	0	0	0,0934
16	0	0	0	0,0914
17	0	0	0	0,0998

Fonte: próprio autor.

Com base nestes dados fez-se os tratamentos estáticos adequados para verificar a influência das variáveis e suas interações através da Figura 19, a qual representa o Diagrama de

Pareto. Os dados foram obtidos considerando o erro puro. No Diagrama de Pareto, a magnitude dos efeitos é representada pelas colunas enquanto a linha transversal às colunas representa a magnitude dos efeitos que são estatisticamente significativos conforme o teste *t-Student* ao nível de confiança de 95% ($p < 0,05$). No Diagrama de Pareto é demonstrado a magnitude dos efeitos das variáveis em seus termos lineares (L), termos quadráticos (Q) e a interação entre os termos. É possível constatar pelo gráfico que o efeito atribuído ao termo linear do tempo de irradiação foi o que apresentou maior significância e influência no sistema PVG-CVAAS, indicando ainda mais que a geração de espécies voláteis de Hg(0) é muito sensível ao tempo de duração da radiação UV aplicado. O termo linear do fluxo de gás carreador e os termos quadráticos do tempo de irradiação e do fluxo de gás também foram significativos, porém com menor efeito em relação ao termo linear do tempo de irradiação.

Figura 19 – Gráfico de Pareto para o Planejamento Composto Central de Face Centrada.



Fonte: próprio autor.

Os dois primeiros termos de maior significância apresentaram efeitos negativos, indicando que em menores tempos de irradiação e fluxo de gás carreador, gera-se uma maior resposta. Corroborando com o estudo univariado, um menor tempo de irradiação é suficiente para a geração de uma alta concentração de espécies voláteis e, em fluxos menores de gás carreador, evita-se a diluição da nuvem atômica de Hg(0) no GLS e na célula de absorção. Observa-se também que o efeito linear da concentração de ácido fórmico e todas as interações entre as variáveis ($C_{AF} \times T_{Irr}$, $C_{AF} \times F_{Gás}$ e $T_{Irr} \times F_{Gás}$) foram significativos estatisticamente. Mesmo

que o efeito linear da concentração de ácido fórmico não tenha apresentado alta significância, este apresentou valor positivo para o seu efeito, indicando que a concentração no nível alto ($10\% \text{ v v}^{-1}$) proporciona uma maior absorvância em razão de uma maior quantidade de radicais gerados pela fotólise do ácido fórmico e que proporcionam a redução das espécies de Hg. Entre os termos analisados, apenas o termo quadrático da concentração de ácido fórmico não foi significativo.

Portanto, de acordo com a verificação da significância estatística dos efeitos, foi possível propor a seguinte equação matemática (modelo) empregando apenas os termos estatisticamente significativos a 95% de confiança (Equação 19):

$$Y = 0,3553 + 0,0224X_1 - 0,0529X_2 + 0,00282X_2^2 - 0,00117X_3 + 2,0 \times 10^{-6}X_3^2 - 0,00178X_1X_2 - 0,00003X_1X_3 - 0,00006X_2X_3 \quad (19)$$

Tem-se que X_1 , X_2 e X_3 representam respectivamente a concentração de ácido fórmico, o tempo de irradiação UV na amostra e o fluxo de gás carreador. Já Y representa o valor predito para a absorvância. O modelo de regressão foi verificado por análise de variância (ANOVA) para validação matemática. Realizou-se análise de resíduos, que consiste em um teste de significância do ajuste do modelo com base na ANOVA. Para determinar a boa adequação do modelo utilizou-se o cálculo do coeficiente de determinação (R^2), que fornece uma medida da proporção da variação por meio da equação de regressão. Para obter a máxima variação que poderia ser explicada pelo modelo, utilizou-se o coeficiente de correlação (r). A Tabela 8 ilustra os dados da ANOVA obtida para os ensaios, os quais foram utilizados para verificar se o modelo quadrático do planejamento é significativo e preditivo ao nível de confiança estabelecido.

Tabela 8 – ANOVA para o Planejamento Composto Central de Face Centrada.

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F _{calc} (95%)	F _{tab} (95%)
Regressão (R)	0,047526	9	0,005281	26,40	3,68
Resíduo (r)	0,001400	7	0,000200		
Falta de Ajuste	0,001362	5	0,000272	14,14	19,30
Erro Puro	0,000039	2	0,000019		
R^2	0,9714				
r máximo de variação	0,9992				

Fonte: próprio autor.

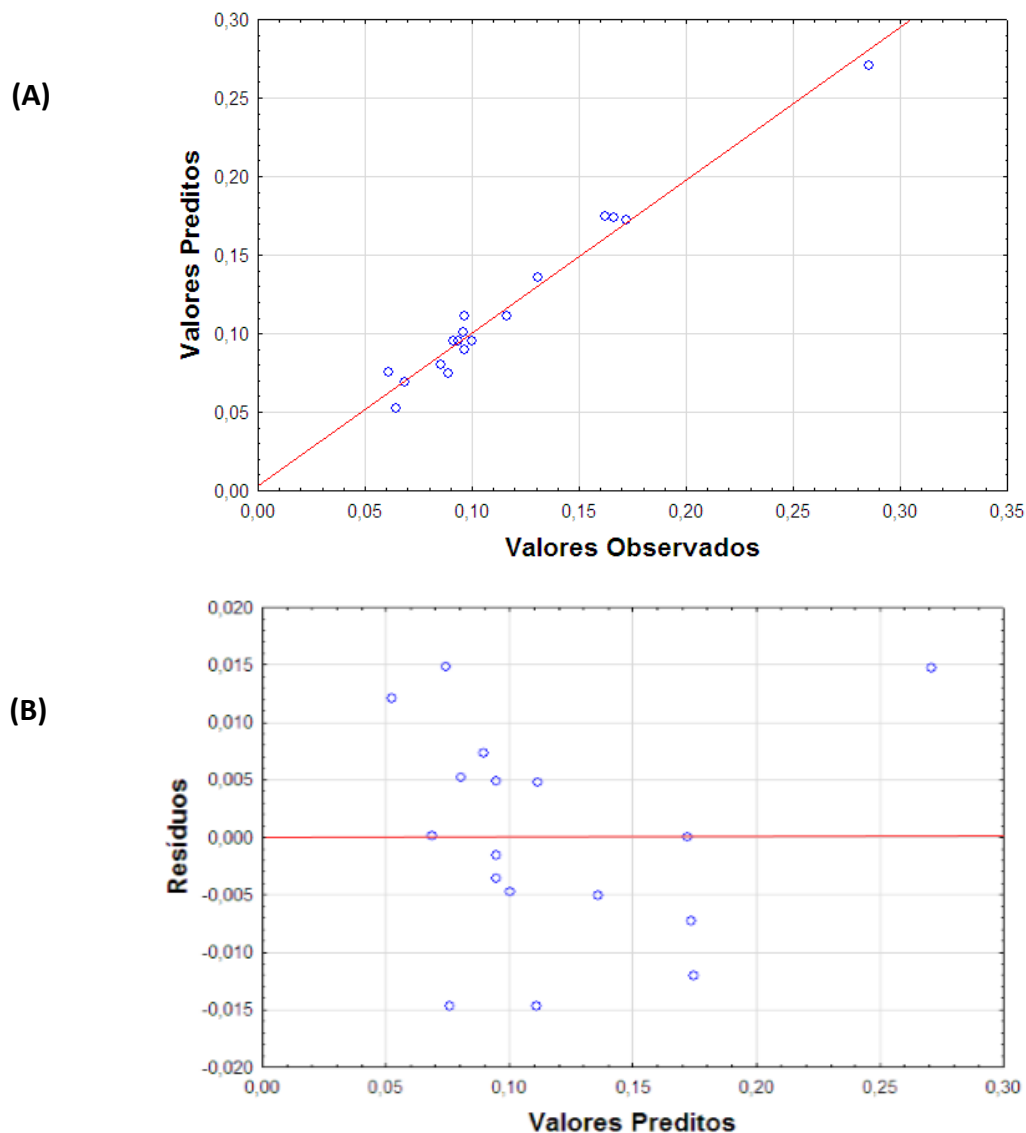
Com base na ANOVA, torna-se necessário a interpretação de cada soma quadrática para avaliação do modelo matemático. A Soma Quadrática da Regressão (SQ_R) representa a soma dos desvios das previsões feitas pelo modelo em relação à média global. A Soma Quadrática Residual (SQ_r) representa a soma das diferenças entre os valores observados e os valores preditos. Em um modelo bem ajustado, a SQ_r deve ser bem pequena para que os valores observados e os valores previstos sejam próximos. A SQ_r é obtida através da adição da Soma Quadrática devido ao Erro Puro (SQ_{EP}) com a Soma Quadrática devida à Falta de Ajuste (SQ_{FA}) ($SQ_r = SQ_{EP} + SQ_{FA}$). A SQ_{EP} fornece uma medida do erro aleatório que é o erro inerente aos experimentos. Já SQ_{FA} fornece medida da falta de ajuste do modelo. A Média Quadrática (MQ) descrita é a Soma Quadrática (SQ) dividida pelo Grau de Liberdade (GL) ($MQ = SQ/GL$). Para o teste F da regressão, calcula-se o valor do F_{calc} por meio da divisão entre a Média Quadrática da Regressão (MQ_R) com a Média Quadrática do Resíduo (MQ_r) ($F_{calc} = MQ_R/MQ_r$). Para o teste F da falta de ajuste, calcula-se o valor do F_{calc} por meio da divisão entre a Média Quadrática da Falta de Ajuste (MQ_{FA}) com a Média Quadrática do Erro Puro (MQ_{EP}) ($F_{calc} = MQ_{FA}/MQ_{EP}$) em um nível de confiança de 95%. Para que o modelo apresente significância estatística, o valor do F_{calc} para a regressão deve ser maior que o F_{tab} ($F_{calc} > F_{tab}$) e para que o modelo não mostre falta de ajuste, o valor de F_{calc} para a falta de ajuste deve ser menor que o F_{tab} ($F_{calc} < F_{tab}$).

Pela ANOVA apresentada na Tabela 8, mostra-se que o modelo matemático proposto possui significância estatística no nível de confiança de 95%, uma vez que o valor de $F_{calc} = 26,40$, foi em torno de 7 vezes maior que o valor de $F_{tab} = 3,68$ ($F_{calc} > F_{tab}$). O modelo não mostrou falta de ajuste devido ao valor da razão (MQ_{EP}/MQ_{FA}) ser de 14,40, relativamente menor que o $F_{tab} = 19,30$ ($F_{calc} < F_{tab}$), sugerindo que o modelo é adequado para fazer previsões. O valor do coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,9714. Portanto, o modelo pode explicar 97,14% da variância total dos dados em torno da média (variação no valor da absorvância). Já com $r = 0,9992$, o modelo fica bastante ajustado aos dados experimentais e é capaz de explicar 99,92% da variância total.

Desta forma, o modelo quadrático gerado pelo FCCD é significativo e pode ser utilizado para fazer previsões. A variação matemática explicada por este modelo é semelhante aos modelos gerados na literatura. Em um estudo de Gao et al. (2015a) para análise de As por PVG-ICP-MS em água do mar, utilizou-se de um Planejamento Composto Central que, após aplicação da ANOVA, foi possível obter um R^2 de 97,7% em um domínio experimental que incluía a concentração de ácido fórmico e o fluxo de gás carreador. Isso demonstra que, com valores apropriados no domínio, é possível obter alta correlação entre dados e previsão através de um modelo matemático.

Observa-se no gráfico de valores observados versus valores preditos (Figura 20A), a aleatorização na distribuição dos pontos em torno da reta, indicando que os desvios positivos e negativos se encontram na mesma magnitude. Observa-se ainda que os pontos de predição do modelo estão bem próximos da reta devido ao alto valor do R^2 , estando adequado para fazer inferências sobre o comportamento dos dados no domínio estudado. Examinando o gráfico de resíduos para o modelo quadrático (Figura 20B) é possível constatar que os resíduos estão bem distribuídos aleatoriamente em torno do zero, sem apresentar estrutura uniforme ou tendências. Segundo Coelho et al. (2018), a distribuição aleatória de resíduos é um requisito necessário para confirmar se um modelo matemático é adequado para os dados experimentais.

Figura 20 – (A) Gráfico de valores observados versus valores preditos e (B) gráfico de resíduo do Planejamento Composto Central de Face Centrada.



Fonte: próprio autor.

Por meio dos resultados obtidos pela análise de gráfico de valores observados versus valores preditos e pelo gráfico de resíduos, observa-se que o modelo quadrático é bem significativo e não mostrou evidência de falta de ajuste.

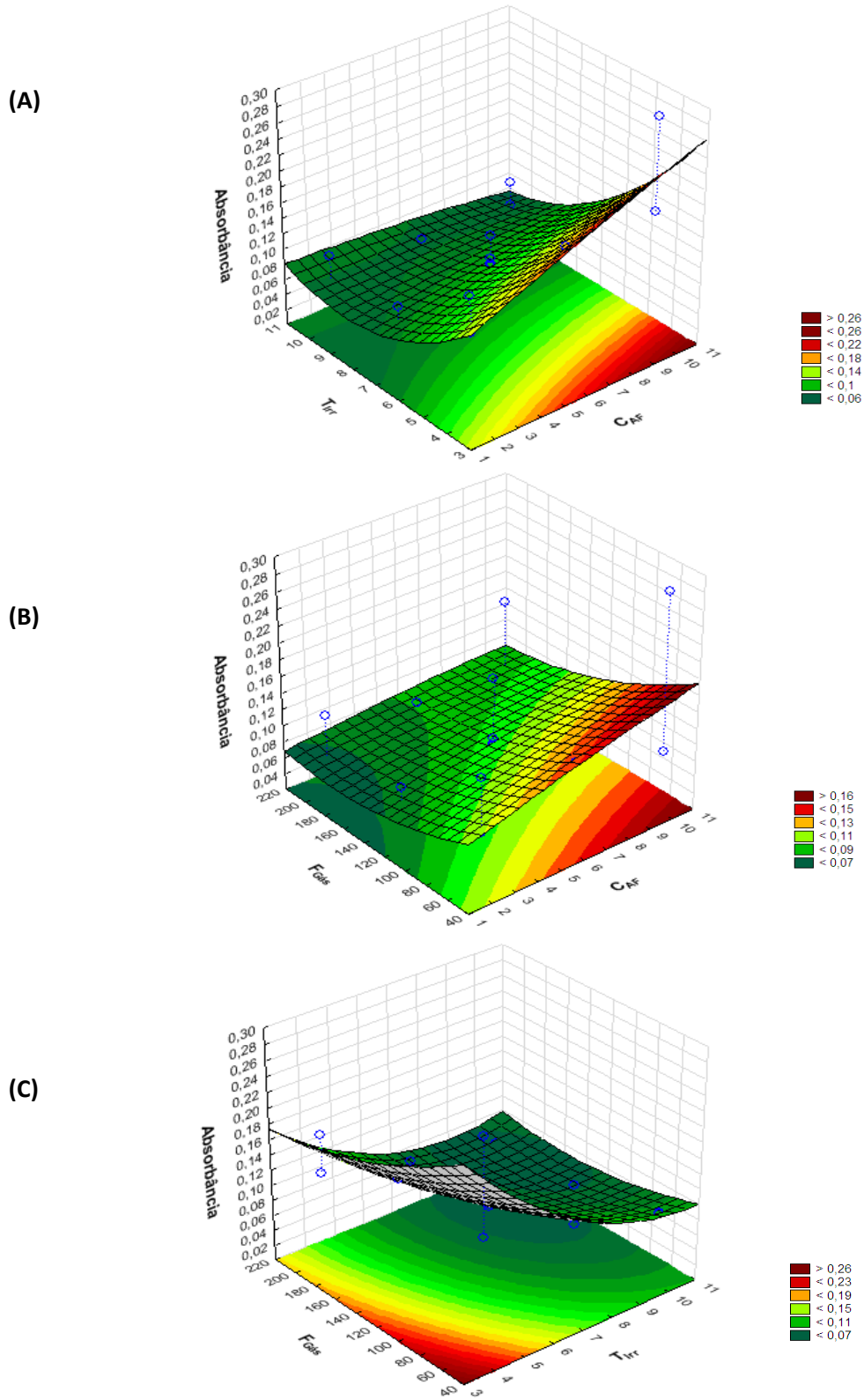
Construiu-se superfícies de resposta para o modelo quadrático apresentado. Nas Figuras 21A e 21B, que representam a concentração de ácido fórmico versus o tempo de irradiação e concentração de ácido fórmico versus fluxo de gás carreador respectivamente, observa-se que a resposta máxima está situada quando se aumenta a concentração do ácido fórmico do meio e quando simultaneamente diminua-se o tempo de irradiação UV da amostra e fluxo de gás. Analisando graficamente a Figura 21C, que representa o tempo de irradiação versus o fluxo de gás, resposta máxima também é obtida quanto utiliza-se valores mínimos destas variáveis. Estes dados corroboram com os dados obtidos do estudo univariado, indicando ainda mais que é necessário maiores concentrações de ácido fórmico para a geração de uma quantidade significativa de radicais, menor tempo de irradiação para a redução do Hg e menor fluxo de gás carreador para o transporte e separação eficiente das espécies voláteis. Portanto, de acordo com a Tabela 9 é possível obter através de valores otimizados, uma absorvância máxima quando se utiliza 10% v v⁻¹ de ácido fórmico, 4 segundos de irradiação UV e 50 mL min⁻¹ para o fluxo de gás carreador.

Tabela 9 – Condições otimizadas do sistema PVG-CVAAS.

Parâmetro	Condição ótima
Configuração do Reator Fotoquímico	Reator (A) - 19 W com fluxo interno
Separador Gás-Líquido	GLS (D) - <i>labmade</i>
Tipo de Precursor Orgânico	Ácido Fórmico
Concentração de Precursor Orgânico	10 % v v ⁻¹
Tempo de Irradiação UV-C	4 segundos
Fluxo de Gás Carreador	50 mL min ⁻¹

Fonte: próprio autor.

Figura 21 – Superfícies de Resposta para o Planejamento Composto Central de Face Centrada, (A) concentração de ácido fórmico x tempo de irradiação, (B) concentração de ácido fórmico x fluxo de gás, (C) tempo de irradiação x fluxo de gás.

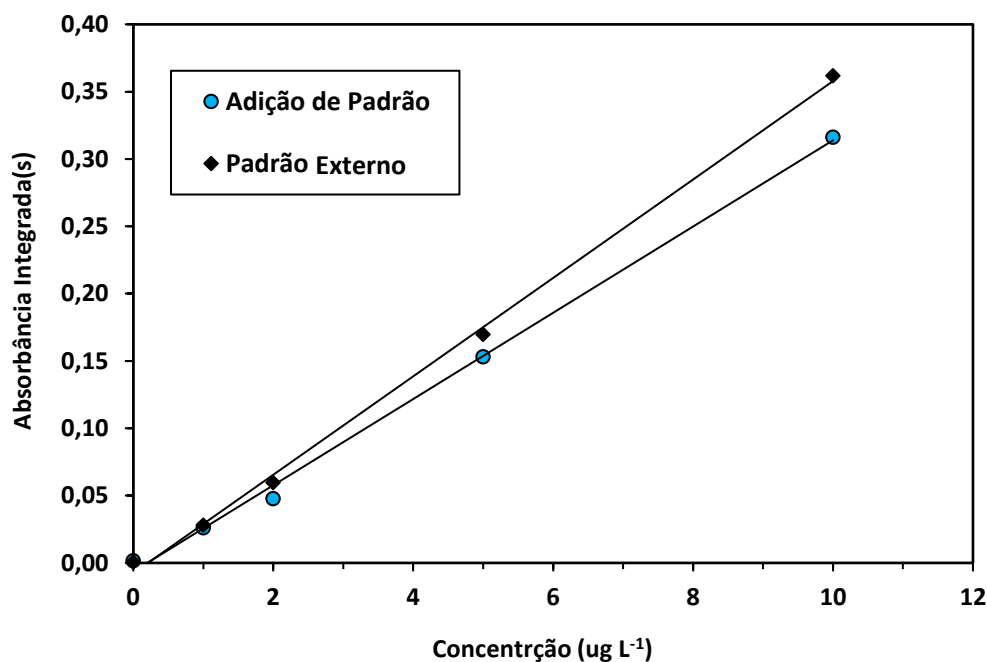


Fonte: próprio autor.

5.8 Parâmetros de desempenho

Devido à matriz complexa de alimento a base de atum para gatos, duas estratégias de calibração foram empregadas para a quantificação de HgT após a otimização do sistema. Na primeira estratégia, utilizou-se soluções preparadas a partir de um padrão aquoso de Hg(II) para produzir uma curva de calibração e, na segunda estratégia, a calibração do método foi realizada por meio da análise de soluções amostra de alimento fortificadas com concentração de Hg(II) variando de 0 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$. As duas curvas de calibração aplicando diferentes métodos são ilustradas na Figura 22. A curva por calibração externa utilizando padrão aquoso exibiu equação de regressão de $y = 0,0365x - 0,0076$; $r = 0,9992$ ($n = 3$). Já a curva pelo método de adição de padrão exibiu faixa linear de 0 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ com uma equação de regressão de $y = 0,032x - 0,0064$; $r = 0,9987$ ($n = 3$) utilizando as condições otimizadas do método. Em ambas as curvas os coeficientes de correlação (r) foram maiores que 0,99, indicando ótima correlação entre os dados. Pode-se observar que, por meio da razão entre os dois coeficientes angulares das curvas, não houve diferença significativa, de modo que a matriz não interfere no sinal de Hg, mesmo com a supressão de sinal na curva com adição de padrão causada pela matéria orgânica e opacidade das soluções amostra.

Figura 22 – Curvas analíticas para calibração do método.



Fonte: próprio autor.

A similaridade dos coeficientes angulares demonstra que a estratégia de calibração externa pode ser usada para determinar a concentração de HgT em amostras alimentícias

utilizando padrões preparados apenas em ácido fórmico 10% v v⁻¹. Desta forma, o método torna-se mais rápido e vantajoso para análise de rotina. Relata-se na literatura o uso do método do padrão externo para análise por PVG-CVAAS em vez do método por adição de padrão. Isto ocorre devido a eficiência da fotogeração de espécies voláteis de Hg oriundas das espécies orgânicas do analito, o que indica a alta capacidade do sistema em liberar o Hg através da quebra das ligações de Hg-C. Da Luz Potes et al. (2016), por exemplo, utilizaram o método de calibração externa para quantificação de Hg em tecidos de peixes por PVG-GFAAS e, Da Silva et al. (2012), também utilizaram o mesmo método de calibração para a quantificação de Hg em biocombustíveis por PVG-CVAAS. Como a maior parte do Hg presente nas amostras de alimentos à base atum é na forma de CH₃Hg⁺, sugere-se que o sistema PVG-CVAAS deste trabalho também apresente alta capacidade de quebrar ligações via reações fotoquímicas, estabelecendo assim, a curva analítica utilizando apenas solução padrão de Hg(II).

Após a definição da estratégia de calibração, determinou-se as figuras analíticas de mérito. Para a validação da exatidão foram analisados materiais de referência certificados (CRM) de DOLT-3 (*Dogfish Liver*) e DORM-1 (*Fish Protein*). Ambos foram preparados em triplicata conforme descrito na secção 4.4 e analisados de acordo com as condições otimizadas da Tabela 9. Os resultados estão sumarizados na Tabela 10, onde é comparado a concentração de HgT obtida com a concentração indicada no CRM.

Tabela 10 – Determinação dos valores de concentração de HgT em CRM.

CRM	Valor experimental (mg kg ⁻¹)	Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)	RSD (%)
DOLT-3	3,69 ± 1,69	3,37 ± 0,14	109,5	4,98
DORM-1	0,755 ± 0,440	0,798 ± 0,074	92,8	6,63

Valores em média ± intervalo de confiança (IC).

Fonte: próprio autor.

Demonstra-se que os valores determinados experimentalmente nos dois CRM's estão de acordo com os valores certificados, não sendo encontrando nenhuma diferença estatística entre as médias a 95% de confiança utilizando o teste *t-Student*. Foi possível obter uma faixa de recuperação percentual de 93-110%, evidenciando a exatidão do método para a determinação de HgT em matrizes biológicas oriundas de peixes. Os valores de desvio-padrão relativo (RSD) demonstram que existe baixa variação e ótima precisão na análise das amostras, sendo obtido uma pequena faixa de 5-6%. A repetibilidade estimada como precisão e expressa

em termos de desvio-padrão relativo por meio de 11 replicatas de soluções de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg(II) foi inferior a 5%, demonstrando uma precisão relativamente boa para o método. A Tabela 11 apresenta os valores de LOD e LOQ correspondentes a 3 e 10 vezes o desvio-padrão de 10 medidas da solução do branco analítico do método, respectivamente, e dividido pela inclinação da curva de calibração.

Tabela 11 – Figuras analíticas de mérito para determinação de HgT.

Parâmetro	Resposta
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0 - 10
Regressão Linear	$y = 0,0365x + 0,0076$
r	0,9992
LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	0,28
LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	0,92
Repetibilidade (n =11)	4,2

Fonte: próprio autor.

Para fins de comparação, a Tabela 12 sumariza alguns LOD de técnicas presentes na literatura para determinação de Hg por meio da geração de vapor.

Tabela 12 – Limites de detecção para determinação de Hg utilizando diferentes técnicas.

Técnica	Agente Redutor	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Referência
CVAAS	NaBH_4	97	FERNÁNDEZ et al. (2015)
CVAAS	SnCl_2	4,9	NASCIMENTO NETO et al. (2012)
CVAFS	SnCl_2	0,9	DA SILVA et al. (2010)
PVG-CVAAS	Ácido Fórmico	25	LÓPEZ-ROUCO et al. (2008)
PVG-CVAAS	Ácido Fórmico	6 - 10	VIEIRA et al. (2007)
PVG-GFAAS	Ácido Fórmico	300	DA LUZ POTES et al. (2016)
PVG-ICP-MS	Ácido Fórmico	0,0005	LIU et al. (2013)

Fonte: próprio autor.

Como pode ser visto, o LOD deste trabalho foi menor do que o reportado por Da Luz Potes et al. (2016), no qual utilizou-se PVG-GFAAS para a determinação de Hg em peixes. Cabe ressaltar que estes autores utilizaram um GFAAS, sendo uma técnica com maior sensibilidade analítica comparado à usada neste trabalho e, mesmo assim, obteve-se um LOD maior quando comparado a técnica menos sensível como o PVG-CVAAS. Também foi possível obter um valor de LOD menor comparado a técnicas que utilizaram o mesmo sistema de detecção. López-Rouco et al. (2008) e Vieira et al. (2007), por exemplo, obtiveram LOD em torno de 21 a 89 vezes maior do que o relatado neste trabalho. A técnica também mostrou-se ser mais sensível comparado ao sistema CVAAS utilizado por Fernández et al. (2014) para determinação de Hg também em amostras de peixes, devido a obtenção de um menor LOD. Ressalta-se que o LOQ deste método está bem abaixo das concentrações de HgT para 90% das amostras analisadas (Tabela 13). Deste modo, o método proposto se mostra viável e com potencialidade para determinação de HgT em alimentos para gatos de estimação.

5.9 Avaliação do teor de HgT

Após a otimização das condições experimentais do método PVG-CVAAS e escolha da estratégia de calibração, 10 amostras de alimentos úmidos enlatados a base de atum para gatos de estimação foram analisadas a fim de determinar o teor de HgT, estimar a ingestão diária do elemento e avaliar a exposição tóxica e potenciais riscos para a saúde destes animais. De acordo com a Tabela 13, o teor de HgT foi determinado em 9 amostras das 10 amostras analisadas. Destas 10 amostras, 3 continham ingrediente único e principal constituído de atum, 2 amostras com ingredientes a base de atum e camarão, 2 amostras de atum com kani (comida típica do Japão feita com carnes de peixes em formato de bastão e sabor imitação de carne de caranguejo), 1 amostra de atum com lula e 1 amostra com ingredientes a base de frango com atum, onde o frango de acordo com o rótulo do fabricante, era o ingrediente principal.

Devido ao frango não ser um animal que bioacumula Hg no meio ambiente, a concentração do elemento na amostra 10 ficou abaixo do LOQ do método, não sendo possível a sua quantificação. As maiores concentrações de HgT foram observadas nas amostras 1 e 3, cujo único ingrediente era a base de atum, com concentrações de $0,388 \pm 0,014 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,266 \pm 0,036 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente. A amostra 2 apresentou teor de HgT de 63,1% a menos que a amostra 1 e 46,2% a menos que a amostra 3, mesmo que o ingrediente das três amostras fosse igual. Possivelmente, esta variação ocorreu devido as amostras serem de lotes e marcas diferentes, o que acarreta diferença significativa da concentração do elemento disponível no

alimento comercial. As amostras que continham mais de um ingrediente apresentaram menores teores de HgT, devido ao segundo ingrediente ser oriundo de peixes ou frutos do mar que bioacumulam menores teores de Hg. A amostra 5 por exemplo, apresentou o menor teor ($0,035 \pm 0,028 \text{ mg kg}^{-1}$) em razão do salmão não ser um peixe predador e ter baixas concentrações de Hg comparado a peixes predadores, sendo o teor percentual de 91% de HgT a menos em comparação a amostra com a maior concentração de HgT.

Tabela 13 – Concentração média de HgT nos alimentos à base de atum para gatos (n = 3).

Amostra	Composição	HgT (mg kg⁻¹)
1	Atum	$0,388 \pm 0,014$
2	Atum	$0,143 \pm 0,067$
3	Atum	$0,266 \pm 0,036$
4	Atum com Lula	$0,122 \pm 0,014$
5	Atum com Salmão	$0,035 \pm 0,028$
6	Atum com Camarão	$0,089 \pm 0,028$
7	Atum com Camarão	$0,196 \pm 0,005$
8	Atum com Kani	$0,058 \pm 0,035$
9	Atum com Kani	$0,138 \pm 0,094$
10	Frango com Atum	ND*

Valores em média \pm desvio-padrão. ND = Não detectado

Fonte: próprio autor.

Outro fator que pode ter resultado em concentrações mais baixas em amostras com dois ingredientes é a presença de peixes de enchimento nas receitas de alimentos que não foram relatadas na lista de ingredientes. De acordo como Luippold & Gustin (2016), outros compostos podem estar presentes nas amostras de alimento e como existem requisitos limitados de listagem de alimentos para animais de estimação, pode haver outros ingredientes incluídos que não estão devidamente descritos nos rótulos, tornando a proporção relativa de componentes dos

alimentos imprecisa. Os mesmos autores relataram concentrações em amostras de rações de cães a base de atum inferiores a $0,100 \text{ mg kg}^{-1}$, sugerindo a diluição da amostra com outros compostos. Já outras amostras de ração para cães contendo salmão apresentaram alta concentração de HgT comparado a rações com atum.

Como relatado anteriormente, não há diretrizes regulatórias do teor de elementos tóxicos presentes em alimentos para animais de estimação no Brasil. No entanto, a Diretiva da Comissão Europeia estabeleceu o limite máximo do teor de HgT de $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$ em alimentos completos para animais de estimação (COMISSÃO EUROPEIA, 2005). Nenhuma das amostras descritas na Tabela 13 excederam o limite apresentado. A amostra 1, com maior concentração de HgT, apresentou um teor de 3% a menos comparado ao limite estabelecido.

Faixas variáveis na concentração de Hg em alimentos para cães e gatos foram relatadas anteriormente. Um estudo feito por Luippold & Gustin (2016) analisou 101 amostras de alimentos úmidos e secos para cães e gatos, onde 14 das amostras analisadas que continham peixe como ingrediente principal apresentaram concentrações de HgT acima de $0,100 \text{ mg kg}^{-1}$. As amostras para gatos apresentaram as maiores concentrações. Foi determinada concentração de HgT superior ao relato no presente estudo. Uma amostra de alimento para gato apresentou concentração de HgT de $0,604 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo 35,8% maior o teor do elemento em comparação a amostra 1 da Tabela 13. Baixas concentrações no estudo de Luippold & Gustin (2016) foram verificadas em alimentos com truta ($0,032 \text{ mg kg}^{-1}$) e com atum ao molho ($0,071 \text{ mg kg}^{-1}$).

Em outro estudo analisou-se os teores de HgT e CH_3Hg^+ em 24 amostras de alimentos para cães. O teor de HgT foi determinado em 3 amostras e apenas uma amostra resultou em teste positivo para CH_3Hg^+ . Uma das amostras apresentou teor de HgT de $0,49 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo 20,8% maior o teor em comparação com a amostra 1. Ressalta-se que esta amostra não continha quaisquer ingredientes a base de peixe ou óleo de peixe, sendo o Hg oriundo de outros componentes do alimento. Os autores sugeriram que as concentrações documentadas no estudo apresentaram baixo risco para cães adultos saudáveis de qualquer tamanho consumindo as dietas amostradas (SIREs et al., 2019).

Os teores de HgT quantificados pelo sistema PVG-CVAAS foram mais altos do que o relatado por estudo brasileiro de Paulelli et al. (2018), onde avaliou-se 88 alimentos secos e enlatados, incluído 14 alimentos para gatos. Os teores de HgT em alimentos para gatos foram significativamente maiores do que para os cães. No estudo de Paulelli et al. (2018), quantificou-se teores de $0,001$ a $0,079 \text{ mg kg}^{-1}$ em alimentos para gatos, sendo 7 amostras da Tabela 13 com concentrações de HgT superiores aos valores encontrados pelos autores. A grande diferença entre os valores de HgT determinados utilizando o sistema PVG-CVAAS em comparação com

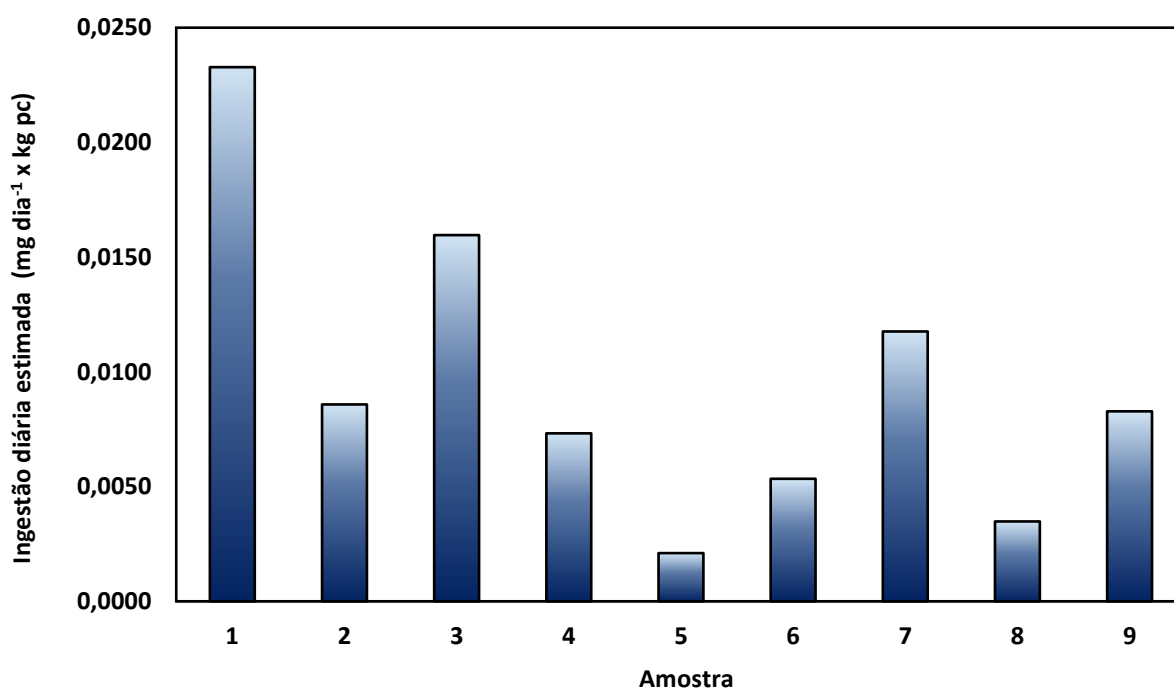
o relatado pelos autores pode ser devido também ao tipo e o modo de produção do alimento analisado. Algumas dietas para gatos são produzidas a partir do processamento de pequenas quantidades de atum e quantidades apreciáveis de farinhas, gomas, corantes, miúdos de outros animais e aditivos alimentares, o que leva a diminuição de quantidades traço de Hg em comparação a alimentos que contêm somente atum e óleo de peixe como ingredientes.

Semelhante ao presente estudo, no qual foi identificado HgT em 90% das amostras com atum como ingrediente majoritário e concentração indetectável para amostra a base de frango, em um estudo realizado por Kim et al. (2018) identificou-se maiores concentrações de HgT em 17 dos 51 alimentos para cães cujo ingrediente principal também era a base de peixe. Os resultados em termos energéticos, mostrou que o valor mais alto para HgT foi de 0,0139 mg Mcal⁻¹ para alimentos com peixe. Já para alimentos à base de carne vermelha, a maior concentração identificado foi de 0,0064 mg Mcal⁻¹ e, para alimentos à base de frango, a maior concentração foi de 0,0023 mg Mcal⁻¹.

5.10 Avaliação da ingestão diária estimada de HgT

De acordo com os resultados da Tabela 13, calculou-se a ingestão diária estimada (IDE). Os resultados para cada amostra estão ilustrados na Figura 23.

Figura 23 – Ingestão diária estimada de HgT para gatos com consumo de 0,150 kg de alimento e com peso corporal de 2,5 kg.



Fonte: próprio autor.

Segundo Paulelli et al. (2018), o IDE é uma previsão da ingestão diária com base na quantidade do elemento químico determinado em amostras de alimentos para animais de estimação e nos melhores dados de consumo de alimentos disponíveis para uma população específica. Como a amostra 10 apresentou concentração de HgT abaixo do LOQ do método, não foi possível realizar o cálculo de IDE. Pela Figura 23, infere-se que o IDE é diretamente proporcional ao teor de HgT presente nos alimentos. Sendo assim, quanto maior a concentração do elemento, maior será a ingestão diária de HgT para o gato. Como a amostra 1 apresentou a maior concentração de HgT, gatos consumindo teoricamente este alimento teriam IDE de $0,0233 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$ de HgT, assumindo peso médio do animal de 2,5 kg e consumo diário de 0,150 kg de alimento. A ingestão para os gatos em relação a alimentos com concentração de HgT igual a amostra 1 oferece uma ingestão diária com 91% a mais de HgT em comparação ao IDE calculado da amostra 5 ($0,0021 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$), cuja concentração foi a mais baixa relatada. Todas as 9 amostras apresentaram IDE superior ao relatado por Paulelli et al. (2018), cujo IDE variou em uma faixa de $7,0 \times 10^{-5} - 0,00104 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$ para alimentos secos e enlatados para cães e $0,0011 - 0,00175 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$ para alimentos também secos e enlatados para gatos.

Em um estudo realizado por Charbonneau et al. (1976), administraram-se doses de $0,003$ a $0,176 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$ de CH_3Hg^+ em grupos de 8 a 10 gatos adultos utilizando peixes contaminados durante 7 dias por semana durante 2 anos. Grupos que receberam a dosagem máxima apresentaram ataxia, perda de equilíbrio e descoordenação motora após 14 semanas de ingestão diária. Já grupos que consumiram $0,074 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$ apresentaram sinais clínicos de toxicidade após 40 semanas e com teor de Hg no sangue e no cérebro de 10 mg L^{-1} . Nenhum efeito foi apresentado em grupos que consumiram no máximo $0,020 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$ durante 2 anos. Mesmo que gatos consumissem alimentos diariamente com a mesma concentração de HgT da amostra 1 de acordo com a Tabela 13 e a Figura 21, o IDE ficaria abaixo da dose para o desenvolvimento de sinais clínicos ($0,074 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$), sendo esta dose 68,5% maior em comparação a amostra 1 ($0,023 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$).

Em outro estudo realizado, onze cães receberam doses de $0,5 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$ de CH_3Hg^+ (uma dose 22 vezes maior que este estudo), onde após uma semana desenvolveram problemas visuais e motores devido a disfunções fisiológicas dos neurônios (MATTSSON et al., 1981). Já o reportado por Davies et al. (1977) em um estudo toxicológico de Hg em cães, revelou-se que uma dose diária de $0,43$ a $0,64 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$ durante 34 e 63 dias gerou diversos sinais clínicos como toxicose, lesões no córtex cerebral, cerebelo e medula espinhal, resultando no óbito dos animais. Já uma dose mais baixa de $0,12 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$ por mais de

1 ano, resultou em lesões no córtex cerebral sem sinais clínicos e aumento progressivo no colesterol total.

Ganther & Sunde (2007) avaliaram o efeito de dietas à base de atum contendo Hg, onde foi relatado que os gatos toleraram concentrações de Hg na dieta de até 3 mg kg^{-1} por 21 semanas sem mostrar sinais clínicos. No entanto, com um aumento de 50% no nível de Hg, todos os gatos vieram a obtido entre 24 e 33 semanas. Isso reflete que uma bioacumulação de Hg no organismo pode ser altamente prejudicial para animais de estimação e emocionalmente relevante para os seus donos.

Para o desenvolvimento de sinais clínicos e comprometimento neurológico, baseando-se no presente estudo, gatos de estimação deveriam teoricamente ingerir uma dose em torno de 3 vezes maior o teor de HgT presente na amostra 1 e 35 vezes maior para a amostra 5, supondo a dose tóxica reportada de $0,074 \text{ mg dia}^{-1} \times \text{kg pc}$. Desta forma, um alimento a base de atum que ocasionasse em efeitos toxicológicos deveria conter aproximadamente $1,25 \text{ mg kg}^{-1}$ do metal pesado. Ressalta-se então que o conjunto de amostras analisadas e comercialmente vendidas no Brasil podem apresentar baixo risco toxicológico para o consumo diário por gatos adultos e saudáveis de estimação em comparação ao relatado na literatura.

6 CONCLUSÃO

Por meio do sistema PVG-CVAAS foi possível avaliar que diferentes parâmetros instrumentais como a configuração de reatores fotoquímicos e GLS influenciaram significadamente na geração de espécies voláteis de Hg. Observou-se que o percurso analítico com material a base de quartzo e o comprimento de onda de trabalho da lâmpada UV-C de 19 W são os fatores que proporcionaram maximização na geração de sinal em relação a configuração do reator fotoquímico. Já em relação a influência da configuração de GLS, demonstrou-se que o separador feito de matérias de baixo custo como tubo de polipropileno para centrifuga foi mais promissor. Com o uso deste GLS, aliado a simplicidade do método de preparo de amostra, gerou-se baixo custo para a análise.

Através de uma análise rigorosa de parâmetros experimentais, determinou-se que foi necessário concentração mais alta de ácido fórmico, menor tempo de irradiação e menor fluxo de gás carreador dentro das faixas estudadas para a maximização do sinal analítico. Com o menor tempo de irradiação UV relatado até agora na literatura, o método torna-se mais vantajoso para análise de rotina. O método também mostrou excelente precisão e exatidão e com um LOD menor comparado a outras técnicas convencionais.

Das 10 amostras de alimentos para gatos analisadas utilizando os parâmetros otimizados do sistema PVG-CVAAS, nenhuma destas apresentaram teores acima do estabelecido por agências reguladoras. Nenhuma das amostras apresentou IDE superior ao considerado teoricamente tóxico para os gatos. Desta forma, os alimentos disponíveis comercialmente para gatos no Brasil podem representar baixo risco toxicológico em relação a contaminação por Hg, proporcionando assim, menor preocupação para os seus donos. Contudo, é importante ressaltar que alimentos para gatos contendo atum enlatado devem servir apenas como alimentação complementar e não como ração diária. Portanto, foi possível desenvolver um método analítico simples, rápido, de baixo custo e com maior capacidade analítica em relação a métodos convencionais de análise para a determinação de HgT em *pet foods*.

REFERÊNCIAS

- ABINPET. **Mercado pet Brasil**. São Paulo, 2019. Disponível em: <http://abinpet.org.br>. Acesso em 24 nov. 2019.
- ALVA, C.V. et al. Concentrations and Health Risk Assessment of Total Mercury in Canned Tuna Marketed in Southeast Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s.l], v. 88, p. 103357, p. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157519310786>. Acesso em: 18 nov. 2019.
- ANADÓN, A. et al. Sixty-sixth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. **World Health Organization - Technical Report Series**, [s.l], n. 939, p. 1-80, 2006.
- BARTOSIAK, M.; GIERSZ, J.; JANKOWSKI, K. Analytical monitoring of selenium nanoparticles green synthesis using photochemical vapor generation coupled with MIP-OES and UV – Vis spectrophotometry. **Microchemical Journal**, [s.l], v. 145, p. 1169-1175, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X1831258X>. Acesso em 09 jan. 2019.
- BISCHOFF, K.; RUMBEIHA, W. K. Pet Food Recalls and Pet Food Contaminants in Small Animals: An Update. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, [s.l], v. 48, p. 917-931, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195561618300846?via%3Dihub>. Acesso em: 18 ago. 2019.
- BUYUKPINAR, Ç. et al. Determination of nickel in water and soil samples at trace levels using photochemical vapor generation-batch type ultrasonication assisted gas liquid separator-atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, [s.l], v. 132, p. 167-171, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X17300085>. Acesso em: 23 mar. 2019.
- CAI, Y. et al. Metal carbonyl vapor generation coupled with dielectric barrier discharge to avoid plasma quench for optical emission spectrometry. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 87, p. 1366-1372, 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac5042457>. Acesso em: 18 set. 2019.
- CHARBONNEAU, S.M. et al. Chronic toxicity of methylmercury in the adult cat. **Toxicology**, [s.l], v. 5, p. 337-349, 1976. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0300483X76900524?via%3Dihub>. Acesso em: 07 dez. 2019.
- CHEN, W. N. et al. Slurry sampling flow injection chemical vapor generation inductively coupled plasma mass spectrometry for the determination of trace Ge, As, Cd, Sb, Hg and Bi in cosmetic lotions. **Analytica Chimica Acta**, [s.l], v. 860, p. 8-14, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267015000446>. Acesso em: 02 jan. 2019.
- COELHO, T. L. S. et al. Optimization of the protein extraction method of goat meat using

factorial design and response surface methodology. **Food Chemistry**, [s.l], v. 281, p. 63-70, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618321599>. Acesso em: 24 nov. 2019.

Comissão Europeia. Diretiva 2005/08/EC do Parlamento Europeu e do Conselho de 27 de janeiro de 2005, sobre substâncias indesejáveis na alimentação dos animais. **Official Journal European the European Union**. 2005, 140: 44-45.

COUNTER, S.A.; BUCHANAN, L.H. Mercury exposure in children: a review. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [s.l], v. 198, p. 209-230, 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X04000432?via%3Dihub>. Acesso em: 10 jul. 2019.

COSTA, S.S.L. et al. Multivariate optimization of an analytical method for the analysis of dog and cat foods by ICP-OES. **Talanta**, [s.l], v. 108, p. 157-164, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914013001513?via%3Dihub>. Acesso em: 26 mar. 2019.

COVACI, E. et al. Methylmercury determination in seafood by photochemical vapor generation capacitively coupled plasma microtorch optical emission spectrometry. **Talanta**, [s.l], v. 170, p. 464-472, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914017304617?via%3Dihub>. Acesso em: 13 abr. 2019.

DA LUZ POTES, M. et al. Determination of mercury in fish by photochemical vapor generation graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Methods**, [s.l], v. 8, p. 8165-8172, 2016. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/ay/c6ay02342h#!divAbstract>. Acesso em: 19 jun. 2019.

DA SILVA, MARIA JOSÉ et al. Determination of mercury in rice by cold vapor atomic fluorescence spectrometry after microwave-assisted digestion. **Analytica Chimica Acta**, [s.l], v. 667, p. 43-48, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267010004186>. Acesso em: 02 fev. 2019.

DA SILVA, C. S. et al. Determination of mercury in ethanol biofuel by photochemical vapor generation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 27, p. 689-694, 2012. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/JA/C2JA10281A#!divAbstract>. Acesso em: 01 dez. 2019.

DAVIES, T.S.; NIELSON, S.W.; JORTNER, B.S. Pathology of chronic and subacute canine methylmercurialism. **Journal of the American Animal Hospital Association**, [s.l], v. 13, p. 369-381, 1977.

DE PAIVA, E. L.; MORGANO, M. A.; MILANI, R. F. Cadmium, lead, tin, total mercury, and methylmercury in canned tuna commercialised in São Paulo, Brazil. **Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance**, [s.l], v. 10, p. 185-191, 2017. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19393210.2017.1311379?journalCode=tfab20>. Acesso em: 18 nov. 2019.

DOS SANTOS, E. J. et al. Determination of thimerosal in human and veterinarian vaccines by photochemical vapor generation coupled to ICP OES. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 25, p. 1627-1632, 2010. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/JA/c0ja00029a#!divAbstract>. Acesso em: 09 jan. 2019.

D'ULIVO, A. et al. Chemical vapor generation atomic spectrometry using amineboranes and cyanotrihydroborate(III) reagents. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 75, p. 2591-2600, 2003. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac020694p>. Acesso em: 29 nov. 2018.

D'ULIVO, A. Mechanism of generation of volatile species by aqueous boranes: Towards the clarification of most controversial aspects. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, [s.l], v. 65, p. 360-375, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0584854710001217>. Acesso em: 03 jan. 2019.

D'ULIVO, A. et al. Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC technical report). **Pure and Applied Chemistry**, [s.l], v. 83, p. 1283-1340, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0584854712000304?via%3Dihub>. Acesso em: 03 jan. 2019.

DURAN, A.; TUZEN, M.; SOYLAK, M. Trace element concentrations of some pet foods commercially available in Turkey. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l], v. 48, p. 2833-2837, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691510004631>. Acesso em: 18 mar. 2019.

FENG, Y. L. et al. Insights into the mechanism of chemical vapor generation of transition and noble metals. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 20, p. 255-265, 2005. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2005/JA/B417172A#!divAbstract>. Acesso em: 02 jan. 2019.

FERNÁNDEZ, ZAHILY HERRERO et al. Application of Cold Vapor-Atomic Absorption (CVAAS) Spectrophotometry and Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry methods for cadmium, mercury and lead analyses of fish samples. Validation of the method of CVAAS. **Food Control**, [s.l], v. 48, p. 37-42, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713514003296>. Acesso em: 10 out. 2019.

FRANCISCO BARBARA, B.A. et al. Determination of inorganic mercury in petroleum production water by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following photochemical vapor generation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 31, p. 751-758, 2016. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/ja/c5ja00444f/unauth#!divAbstract>. Acesso em: 27 ago. 2019.

GAN, W. E.; SHI, W. W.; SU, Q. DE. Simultaneous determination of trace mercury and cadmium in tobacco samples by cold vapor generation-atomic fluorescence spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l.], v. 19, p. 911-916, 2004. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2004/JA/b402545h#!divAbstract>. Acesso em: 03 jan. 2019.

GAO, Y. et al. On-line preconcentration and in situ photochemical vapor generation in coiled reactor for speciation analysis of mercury and methylmercury by atomic fluorescence spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l.], v. 26, p. 126-132, 2011. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2011/JA/C0JA00137F#!divAbstract>. Acesso em: 07 jan. 2019.

GAO, Y.; RUI, L.; LU, Y. Application of chemical vapor generation in ICP-MS: A review. **Chinese Science Bulletin**, [s.l.], v. 58, p. 1980-1991, 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11434-013-5751-0>. Acesso em: 07 ago. 2019.

GAO, Y. et al. Direct determination of mercury in cosmetic samples by isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry after dissolution with formic acid. **Analytical Chimica Acta**, [s.l.], v. 812, p. 6-11, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267014000270>. Acesso em: 21 fev. 2019.

GAO, Y. et al. Multivariate optimization of photochemical vapor generation for direct determination of arsenic in seawater by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, [s.l.], v. 901, p. 34-40, 2015a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267015012866>. Acesso em: 03 jan. 2019.

GAO, Y. et al. Metal ion-assisted photochemical vapor generation for the determination of lead in environmental samples by multicollector- ICPMS. **Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 87, p. 4495-4502, 2015b. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.analchem.5b00533>. Acesso em: 06 nov. 2018.

GAO, Y. et al. On-line UV photochemical generation of volatile copper species and its analytical application. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 124, p. 344-349, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X15002210>. Acesso em: 27 mar. 2019.

GAO, Y. et al. Sensitive determination of osmium in natural waters by inductively coupled plasma mass spectrometry after photochemical vapor generation. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 130, p. 281-286, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X1630248X>. Acesso em: 10 jul. 2018.

GBC, Government of British Columbia (1996) **Animal weights and their food and water requirements, Resource document, ministry of environment, lands and parks**. Disponível em: https://www2.gov.bc.ca/assets/gov/environment/air-land-water/water/waterquality/water-quality-reference-documents/animal_weights_and_their_food_and_water_requirements.pdf. Acesso em: 2 dez 2019.

GANTHER, H. E.; SUNDE, M. L. Factors in fish modifying methylmercury toxicity and metabolism. **Biological Trace Element Research**, [s.l], v. 119, p. 221-233, 2007. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12011-007-8006-6>. Acesso em: 21 nov. 2019.

GARDNER, G. J.; GUO, X.; STURGEON, R. E. UV light-mediated alkylation of inorganic selenium. **Applied Organometallic Chemistry**, [s.l], v. 17, p. 575-579, 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/aoc.473>. Acesso em: 05 mar. 2019.

GRINBERG, P.; STURGEON, R. E. Ultra-trace determination of iodine in sediments and biological material using UV photochemical generation-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, [s.l], v. 64, p. 235-241, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0584854709000263>. Acesso em: 09 jan. 2019.

GUO, X.; et al. UV vapor generation for determination of selenium by heated quartz tube atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 75, p. 2092-2099, 2003. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac020695h>. Acesso em: 08 jan. 2019.

GUO, X.; et al. Vapor generation by UV irradiation for sample introduction with atomic spectrometry. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 76, p. 2401-2405, 2004. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac0353536>. Acesso em: 05 dez. 2018.

HASSLER, J. et al. Determination of trace elements in high-purity copper by ETV-ICP OES using halocarbons as chemical modifiers. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 26, p. 2404-2418, 2011. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2011/JA/c1ja10149h#!divAbstract>. Acesso em: 27 dez. 2018.

HE, C. et al. Photochemical vapor generation and in situ preconcentration for determination of mercury by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Methods**, [s.l], v. 7, 3015-3021, 2015. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/AY/C5AY00095E#!divAbstract>. Acesso em: 05 set. 2018.

HU, J. et al. Copper ion assisted photochemical vapor generation of chlorine for its sensitive determination by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 90, p. 4112-4118, 2018. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.analchem.8b00035>. Acesso em: 08 mai. 2019.

HU, J. et al. Cobalt and copper ions synergistically enhanced photochemical vapor generation of molybdenum : mechanism study and analysis of water samples. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 91, p. 5938-5944, 2019. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.9b00337>. Acesso em: 24 nov. 2019.

JESUS, H.C.; GRINBERG, P.; STURGEON, R.E. System optimization for determination of cobalt in biological samples by ICP-OES using photochemical vapor generation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 31, p. 1590-1604, 2016. Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/ja/c6ja00069j#!divAbstract>. Acesso em: 23 ago. 2018.

JIA et al. Metal organic frameworks CAU-1 as new photocatalyst for photochemical vapour generation for analytical atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l.], v. 30, p. 339-342, 2015. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/JA/C4JA00360H#!divAbstract>. Acesso em: 19 fev. 2019.

JIA et al. Reduction of interferences using Fe-containing metal–organic frameworks for matrix separation and enhanced photochemical vapor generation of trace bismuth. **Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 91, p. 5217-5224, 2019. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.8b05893>. Acesso em: 20 abr. 2019.

JIANG, X. et al. Electrochemical hydride generation atomic fluorescence spectrometry for detection of tin in canned foods using polyaniline-modified lead cathode. **Journal of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 185, p. 331-336, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389410010563?via%3Dihub>. Acesso em: 15 jun. 2019.

KIM, H. et al. Evaluation of arsenic, cadmium, lead and mercury contamination in over-the-counter available dry dog foods with different animal ingredients (red meat, poultry, and fish). **Frontiers in Veterinary Science**, [s.l.], v. 5, p. 1-8, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2018.00264/full>. Acesso em: 23 abr. 2019.

LEONORI, D.; STURGEON, R.E. A unified approach to mechanistic aspects of photochemical vapor generation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l.], v. 34, p. 636-654, 2018. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/ja/c8ja00354h#!divAbstract>. Acesso em: 07 jan. 2019. Acesso em: 07 jan. 2019.

LI, M. et al. UV photochemical vapor generation–nitrogen microwave induced plasma optical emission spectrometric determination of nickel. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l.], v. 33, p. 1086-1091, 2018. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/ja/c8ja00100f#!divAbstract>. Acesso em: 11 jul. 2018.

LI, P. et al. Mercury exposures and symptoms in smelting workers of artisanal mercury mines in Wuchuan, Guizhou, China. **Environmental Research**, [s.l.], v. 107, p. 108-114, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S001393510700165X>. Acesso em: 01 dez. 2019.

LIU, RUI et al. Determination of total mercury in biological tissue by isotope dilution ICPMS after UV photochemical vapor generation. **Talanta**, [s.l.], v. 117, p. 371–375, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914013007522?via%3Dihub>. Acesso em: 14 ago. 2019.

LOBO, L.; PEREIRO, R.; FERNÁNDEZ, B. Opportunities and challenges of isotopic analysis by laser ablation ICP-MS in biological studies. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 105, p. 380-390, 2018. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165993618300852>. Acesso em 30 dez. 2018.

LOPES, G.S. et al. Evaluation of approaches to the abatement of nitrate interference with photochemical vapor generation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 32, p. 2378-2390, 2017. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/ja/c7ja00311k#!divAbstract>. Acesso em: 15 out. 2018.

LÓPEZ-ROUCO, A. et al. UV reduction with ultrasound-assisted gas-liquid separation for the determination of mercury in biotissues by atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 23, p. 1026–1029, 2008. Disponível: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2008/JA/b802612b#!divAbstract>. Acesso em: 20 nov. 2018.

LUIPPOLD, A.; GUSTIN, M. S. Mercury concentrations in wet and dry cat and dog food. **Animal Feed Science and Technology**, [s.l], v. 222, p. 190-193, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840116309257?via%3Dihub>. Acesso em: 18 ago. 2019.

MATTSSON, J.L. et al. Early effect of methylmercury on the visual evoked response of the dog. **Neurotoxicology**, [s.l], v. 2, p. 499-514, 1981. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/7199687>. Acesso em: 01 out. 2019.

MATUSIEWICZ, H.; ŚLACHCIŃSKI, M. Simultaneous determination of hydride forming (As, Bi, Ge, Sb, Se, Sn) and Hg and non-hydride forming (Ca, Fe, Mg, Mn, Zn) elements in sonicate slurries of analytical samples by microwave induced plasma optical emission spectrometry with dual-mode sample introduction system. **Microchemical Journal**, [s.l], v. 86, p. 102-111, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X06002050>. Acesso em: 05 dez. 2018.

MATUSIEWICZ, H.; ŚLACHCIŃSKI, M. Ultrasonic nebulization/UV photolysis vapor generation sample introduction system for the determination of conventional hydride (As, Bi, Sb, Se, Sn) and cold vapor (Hg, Cd) generation elements in reference materials in the presence of acetic acid by microwave-induced plasma spectrometry. **Spectroscopy Letters**, [s.l], v. 46, p. 315-326, 2013. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00387010.2012.725702>. Acesso em: 10 out. 2019.

MICARONI, R.C.C.M.; BUENO, M.I.M.S.; JARDIM, W.F. Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. **Química Nova**, [s.l], v. 4, p. 487-495, 2000. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422000000400011. Acesso em: 25 fev. 2019.

MORAES, P.M. et al. GFAAS determination of mercury in muscle samples of fish from Amazon, Brazil. **Food Chemistry**, [s.l], v. 14, p. 2614-2617, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613005918?via%3Dihub>. Acesso em: 01 set. 2019.

NASCIMENTO NETO, A. P.N. et al. Method validation for the determination of total mercury in fish muscle by cold vapour atomic absorption spectrometry. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, [s.l.], v. 29, p. 617-624, 2012. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19440049.2011.642009>. Acesso em: 12 set. 2019.

NAKAHARA, T. Development of Gas-Phase Sample-Introduction Techniques for Analytical Atomic Spectrometry. **Analytical Sciences**, [s.l.], v. 21, p. 477-484, 2005. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci/21/5/21_5_477/_article. Acesso em: 05 dez. 2018.

NÓBREGA, J.A et al. UV photochemical generation of volatile cadmium species. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l.], v. 26, p. 2519-2523, 2011. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2011/ja/c1ja10252d#!divAbstract>. Acesso em: 27 mar. 2019.

NOVÁKOVÁ, E. et al. Flow injection determination of Se in dietary supplements using TiO₂ mediated ultraviolet-photochemical volatile species generation. **Spectrochimica Acta Part B**, [s.l.], v. 134, p. 98-104, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0584854717300976>. Acesso em: 07 set. 2018.

OKYERE, H.; VOEGBORLO, R. B.; AGORKU, S. E. Human exposure to mercury, lead and cadmium through consumption of canned mackerel, tuna, pilchard and sardine. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 179, p. 331-335, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615000400?via%3Dihub>. Acesso em: 18 nov. 2019.

OLIVEIRA, R.M.; BORGES, D.L.G. UV photochemical vapor generation of noble metals (Au, Ir, Pd, Pt and Rh): a feasibility study using inductively coupled plasma mass spectrometry and seawater as a test matrix. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l.], v. 33, p. 1700-1706, 2018. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/ja/c8ja00179k#!divAbstract>. Acesso em: 05 dez. 2018.

ORESTE, E. Q. et al. Determination of Hg in biological samples and ethanol fuel by photochemical vapor generation after pre-concentration in a gold trap. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s.l.], v. 28, p. 1779-1787, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532017000901779. Acesso em: 08 set. 2018.

PARODI, B. et al. On-line solid phase extraction of bismuth by FI-HG-AAS using l-proline immobilised on carbon nanotubes combined with factorial design. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 122, p. 70-75, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X15000752>. Acesso em: 02 jan. 2019.

PAULELLI, A.C.C. et al. Risk assessment of 22 chemical elements in dry and canned pet foods. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, [s.l.], v. 13, p. 359-365, 2018.

Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00003-018-1178-5>. Acesso em: 18 mar. 2019.

PEREIRA, C. D. et al. Aerosol generation of As and Se hydrides using a new Flow Blurring® multiple nebulizer for sample introduction in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 112, p. 82-86, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X13001616>. Acesso em: 21 nov. 2019.

PEREIRA, L. et al. Multivariate assessment of extraction conditions for the fractionation analysis of mercury in oily sludge samples using cold vapor atomic fluorescence spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l.], v. 34, p. 1932-1941, 2019. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/ja/c9ja00179d#!divAbstract>. Acesso em: 21 nov. 2019.

PONTES, M.L. et al. Investigation of the conditions for selenium determination by photochemical vapor generation coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 147, p. 324-332, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X18314917>. Acesso em: 18 mar. 2019.

QUADROS, D.P.C.; BORGES, D.L.G. Direct analysis of alcoholic beverages for the determination of cobalt, nickel and tellurium by inductively coupled plasma mass spectrometry following photochemical vapor generation. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 116, p. 244-248, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X14000745?via%3Dihub>. Acesso em: 25 ago. 2018.

QIN et al. Ultraviolet vapor generation atomic fluorescence spectrometric determination of mercury in natural water with enrichment by on-line solid phase extraction. **Spectrochimica Acta Part B**, [s.l.], v. 88, p. 10-14, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0584854713002036>. Acesso em: 09 jan. 2019.

RAMESH KUMAR, A.; RIYAZUDDIN, P. Mechanism of volatile hydride formation and their atomization in hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analytical Sciences**, [s.l.], v. 21, p. 1401-1410, 2005. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci/21/12/21_12_1401/_article. Acesso em: 28 jul. 2019.

RAMEZANI, Z.; BEHFAR, A.A.; JAFARI, S. Low density polyethylene window for the determination of mercury by cold vapor atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, p. 886-888, 2010. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/JA/c001080d#!divAbstract>. Acesso em: 10 dez. 2018.

RIBEIRO, A. et al. Ultrasound-assisted vapor generation of mercury. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s.l.], v. 338, p. 849-857, 2007. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00216-007-1197-z>. Acesso em: 18 set. 2019.

ROMANOVSKIY, K. et al. A novel photochemical vapor generation for ICP-MS determination of As, Bi, Hg, Sb, Se and Te. **Talanta**, [s.l], v. 187, p. 370-378, 2018.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914018305435?via%3Dihub>.

Acesso em: 24 jun. 2019.

SALVADOR, G.; SOARES, B. S.; BORGES, D. L. G. Nickel determination in oily sludge leachates using isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry following photochemical vapor generation : A feasibility study. **Microchemical Journal**, [s.l], v. 141, p. 301-307, 2018. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X18303916>. Acesso em: 10 ago. 2018.

SHEN, Y. et al. Integration of hydride generation and photochemical vapor generation for multi-element analysis of traditional Chinese medicine by ICP-OES. **Microchemical Journal**, [s.l], v. 123, p. 164-169, 2015. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X15001241>. Acesso em: 09 jan. 2019.

SIRES, R. A. et al. Determination of Total Mercury and Methylmercury Concentrations in Commercial Canine Diets. **Topics in Companion Animal Medicine**, [s.l], v. 35, p. 6-10, 2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1938973618301995>. Acesso em: 18 mar. 2019.

SKOOG, D. A; CROUCH, S.R.; HOLLER, J.F. **Princípios de Análise Instrumental**, 5ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2006, 836p.

SOUKAL, J.; STUREGON, R.E.; MUSIL, S. Efficient photochemical vapor generation of molybdenum for ICPMS detection. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 19, p. 11688-11695, 2018.

Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.8b03354>. Acesso em: 26 set. 2018.

STURGEON, R.E; MESTER, Z. Analytical applications of volatile metal derivatives.

Applied Spectroscopy, [s.l], v. 56, p. 202A-213A, 2002. Disponível em:

<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1366/000370202760249675>. Acesso em: 03 jan. 2019.

STURGEON, R.E.; LUONG, V. Photo- and thermo-chemical vapor generation of Mercury. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 28, p. 1610-1619, 2013.

Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/JA/C3JA50152C#!divAbstract>. Acesso em: 15 nov. 2018.

STURGEON, R. E. Detection of Bromine by ICP- oa -ToF-MS Following Photochemical Vapor Generation. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 87, p. 3072-3079, 2015. Disponível em:

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac504747a>. Acesso em: 25 ago. 2018.

STURGEON, R.E. Photochemical vapor generation: a radical approach to analyte introduction for atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v.

32, p. 2319-2340, 2017. Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/ja/c7ja00285h#!divAbstract>. Acesso em: 05 dez. 2018.

TAI, C. Y.; JIANG, S. J.; SAHAYAM, A. C. Determination of As, Hg and Pb in herbs using slurry sampling flow injection chemical vapor generation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Food Chemistry**, [s.l], v. 192, p. 274-279, 2016. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615010122>. Acesso em: 28 nov. 2018.

TAN, Q. et al. Determination of ultratrace tellurium in water by hydride generation atomic absorption spectrometry after online preconcentration with nano-TiO₂ microcolumn.

Microchemical Journal, [s.l], v. 144, p. 495-499, 2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X18312050>. Acesso em: 01 fev. 2019.

VANDECASTEELE, C.; BLOCK, C.B. **Modern methods for trace element determination**. John Wiley & Sons, 1993.

VEREDA ALONSO, E. et al. Mercury speciation in sea food by flow injection cold vapor atomic absorption spectrometry using selective solid phase extraction. **Talanta**, [s.l], v. 77, p. 53-59, 2008. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914008004372?via%3Dihub>. Acesso em: 04 jul. 2019.

VIEIRA, M.A. et al. Determination of total mercury and methylmercury in biological samples by photochemical vapor generation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s.l], v. 338, p. 837-847, 2007. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-007-1194-2>. Acesso em: 21 ago. 2019.

WANG, T. **Inductively coupled plasma optical emission spectrometry**. Analytical Instrumentation Handbook, Third Edition, p. 57-74, 2004.

WANG, Y. et al. Ferric ion induced enhancement of ultraviolet vapour generation coupled with atomic fluorescence spectrometry for the determination of ultratrace inorganic arsenic in surface water. **Analyst**, [s.l], v. 141 p. 1530-1536, 2016. Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/AN/C5AN02489G#!divAbstract>. Acesso em: 07 abr. 2019.

WELZ B, SPERLING M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3^a ed., Wiley-VCH, Weinheim, 1999.

YIN, Y.; LIU, J.; JIANG, G. Photo-induced chemical-vapor generation for sample introduction in atomic spectrometry. **Trends in Analytical Chemistry**, [s.l], v. 30, p. 1672-1684, 2011. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165993611002160>. Acesso em: 03 jan. 2019.

YIN, Y. et al. Possible alkylation of inorganic Hg(II) by photochemical process in the environment. **Chemosphere**, [s.l], v. 88, p. 8-16, 2012. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653512000264>. Acesso em: 04 dez. 2019.

YU, Y. et al. Enhanced photochemical vapor generation for the determination of bismuth by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 90, p. 13557-13563, 2018. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.8b03681>. Acesso em: 02 nov. 2018.

ZENG, C. et al. Chemical vapor generation coupled with atomic fluorescence spectrometry for the determination of manganese in food samples. **Microchemical Journal**, [s.l], v. 131, p. 31-35, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X16303873>. Acesso em: 05 dez. 2018.

ZHANG, S. et al. Determination of Hg, Fe, Ni and Co by miniaturized optical emission spectrometry integrated with flow injection photochemical vapor generation and point discharge. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 87, p. 10712-10718, 2015. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.5b02820>. Acesso em: 05 dez. 2018.

ZHAO, Q. et al. Low volume microwave digestion and direct determination of selenium in biological samples by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, [s.l], v. 665, p. 123-128, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267010003235>. Acesso em: 29 nov. 2018.

ZHENG, C. et al. Photo-induced chemical vapor generation with formic acid for ultrasensitive atomic fluorescence spectrometric determination of mercury: potential application to mercury speciation in water. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 20, p. 746-750, 2005. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2005/ja/b503727a#!divAbstract>. Acesso em: 09 jan. 2019.

ZHENG, C.; STURGEON, R.E.; HOU, X. UV photochemical vapor generation and in situ preconcentration for determination of ultra-trace nickel by flow injection graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s.l], v. 24, p. 1452-1458, 2009. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2009/ja/b909962j#!divAbstract>. Acesso em: 07 jan. 2019.

ZHENG, C. et al. Versatile thin-film reactor for photochemical vapor generation. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 82, p. 3086-3093, 2010a. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac100229k>. Acesso em: 10 jan. 2019.

ZHENG, C. et al. UV Photochemical vapor generation sample introduction for determination of Ni, Fe, and Se in biological tissue by isotope dilution ICPMS. **Analytical Chemistry**, [s.l], v. 82, p. 3899-3904, 2010b. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac1004376>. Acesso em: 10 jan. 2019.

ZHOU, J. et al. Determination of total inorganic arsenic in water samples by cadmium ion assisted photochemical vapor generation-atomic fluorescence spectrometry. **Microchemical**

Journal, [s.l.], v. 146, 359-365, 2019. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X18318320>. Acesso em: 03 fev. 2019.

ZICKER, S. C. Evaluating Pet Foods: How Confident Are You When You Recommend a Commercial Pet Food? **Topics in Companion Animal Medicine**, [s.l.], v. 23, p. 121-126, 2008. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1938973608000366?via%3Dihub>. Acesso em: 24 nov. 2019.

ZURYNKOVÁ, P.; DĚDINA, J.; KRATZER, J. Trace determination of antimony by hydride generation atomic absorption spectrometry with analyte preconcentration/atomization in a dielectric barrier discharge atomizer. **Analytica Chimica Acta**, [s.l.], v. 1010, p. 11-19, 2018. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267018300989?via%3Dihub>. Acesso em: 01 jan. 2019.