UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

LEANDRO MOTA SANTOS

**Proposta de método para determinação de Pt em
sangue total visando o uso como biomarcador de
exposição ambiental por veículos automotivos**

Versão Corrigida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

14/05/2015

LEANDRO MOTA SANTOS

**Proposta de método para determinação de Pt em
sangue total visando o uso como biomarcador de
exposição ambiental por veículos automotivos**

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo
para obtenção do Título de Mestre em
Ciências (Química)*

Orientador: Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira

São Paulo

2015

*À minha amada mãe, por todo apoio,
cumplicidade e amor.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço, de maneira carinhosa, a todas as pessoas que fizeram e fazem parte da minha vida, por compartilhar momentos que direta ou indiretamente, me ajudaram alcançar e concluir este trabalho.

Ao Professor Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira, pela oportunidade concedida, confiança, ensinamentos, atenção, ajuda e paciência. Sou profundamente grato.

À Professora Dra. Cassiana Seimi Nomura, pelos conhecimentos compartilhados, boa convivência e pronta ajuda quando necessário.

Ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo pela oportunidade, infraestrutura e docentes que contribuíram para realização desse trabalho.

Em especial à minha mãe, Maria Donizete, por sempre estar ao meu lado e por ser meu alicerce. Pela educação, cumplicidade e amor.

À minha família, meu pai Cícero, meu irmão Renato e minha namorada Juliane, por todos os momentos alegres e amorosos.

Aos meus amigos Everton, Geano, Daniel da Silva, Victor e Cláudio Felipe pelo companheirismo e suporte em todos os momentos.

Aos Professores Cláudio Bica e Patrícia di Vitta, por terem compartilhado seus conhecimentos e por suas palavras de incentivo, fundamentais para que eu alcançasse esse objetivo.

A todos os amigos do Grupo de Análise e Pesquisa em Espectrometria (GAPE) em especial aos alunos/ex-alunos Alexandre Souza, Angerson, Fábio, Juliana, Maciel, Alexandre Fioroto, Alexandrina, Daniel, Diego, Flávio, Gislayne, Luiza, Pedro, Rogério, Vivian, e às técnicas Luciana e Priscila.

Ao CNPq pela bolsa concedida, a CAPES e a FAPESP pelo apoio financeiro.

Obrigado!

*"... é impossível existir sem sonho. A vida na
sua totalidade me ensinou como grande lição
que é impossível assumi-la sem risco."*

Paulo Freire

RESUMO

Santos, L. M. **Proposta de método para determinação de Pt em sangue total visando o uso como biomarcador de exposição ambiental por veículos automotivos**. 2015. 98p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências (Química). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Reflexo de um modo de vida que exige locomoção rápida e com um mínimo de conforto, atualmente, nas grandes metrópoles, há um grande número de veículos em circulação que emitem gases poluentes (hidrocarbonetos, CO e óxidos de nitrogênio – NO_x). Para minimizar a emissão desses gases, os carros atuais são dotados de conversores catalíticos, formados pelos metais do grupo da platina, com a finalidade de converter gases nocivos em gases menos agressivos ao ambiente e ao homem. Porém, esses elementos constituintes dos conversores catalíticos podem ser expelidos para o ambiente, na forma de materiais particulados em suspensão, por volatilização ou junto com os gases da combustão. Desta forma, esses elementos podem acumular-se nos mais diversos ambientes. A utilização de amostras biológicas, tal como sangue, na investigação e no controle à exposição de elementos nos seres humanos vem sendo praticada há muito tempo. Estudos com materiais biológicos apontam que as concentrações de metais do grupo da Platina estão na ordem de ng/kg. Tais níveis de concentração representam um grande desafio para a Química Analítica, pois são muito baixos para que se tenham resultados com boa precisão e exatidão nas análises, mesmo utilizando técnicas muito sensíveis. Como alternativa para contornar os problemas, nas determinações destas baixas concentrações, etapas prévias de pré-concentração, com posterior determinação, vem sendo propostas com sucesso. Nessa pesquisa, para a pré-concentração dos analito, extração em ponto nuvem foi empregada com determinação por espectrometria de absorção atômica por forno de grafite. O procedimento da extração em ponto nuvem consiste em derivatizar os analitos em espécies hidrofóbicas por meio de um agente complexante, e extrair por micelas formadas a partir de um surfactante não iônico, induzidas por mudança de temperatura. Essa extração se baseia no fenômeno que ocorre com a formação de agregados micelares, quais apresentam caráter hidrofóbico. Foram estudados diferentes ligantes, e o melhor resultado para a extração foi obtido empregando-se o APDC (pirrolidina ditiocarbamato de amônio). Os parâmetros da extração em ponto nuvem otimizados para o melhor ligante foram: pH=7; $3,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ de APDC; 0,5 % m v⁻¹ de Triton X-114; 60°C durante 10 min de banho, 10 min de centrifugação e 50 mg L⁻¹ Cu(II) como modificador químico. O método apresentou fator de enriquecimento de 24 vezes, mas o LOD (0,24 µg L⁻¹) ficou muito acima dos valores apresentados em amostras de indivíduos expostos e não expostos. Adições de 1, 5 e 10 µg L⁻¹ foram realizadas para avaliar a exatidão do método e apresentaram recuperações média de 91%.

Palavras-chave: platina, sangue, extração em ponto nuvem, absorção atômica, forno de grafite.

ABSTRACT

Santos, L. M. **A method for determination of Pt in whole blood in order to use as biomarker of environmental exposure by automotive vehicles.** 2015. 98p. Masters Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Reflecting a way of life that requires fast displacement with a minimum of comfort, currently in big cities, there are a large number of vehicles that produce a large amount of waste gases (hydrocarbons, CO and nitrogen oxides - NO_x) to atmosphere. To minimize the emission of these gases, current cars are equipped with catalytic converter, made of platinum group metals, which has the purpose of converting the noxious gases into less harmful gases to environment and man. However, these constituents of the catalytic converter can be expelled to the environment in form of particulates in suspension, or by volatilization along with the combustion gases. Thus, these elements can accumulate. Biological samples such as blood, urine, hair, nail, have been used for a long time in studies and control of human exposition to elements. Studies of biological materials indicate that the concentrations of platinum group metals are the order of ng/kg. Such concentration levels means a huge challenge for analytical chemistry, as they are too low to provide the necessary results with good precision and accuracy in the analysis, even using very sensitive techniques. As an alternative to overcome the problems in the provisions of these low concentrations, preconcentration methods, with subsequent determination has been proposed successfully. Cloud point extraction (CPE) was proposed in this work for pre-concentration of the analytes. CPE procedure consists in derivatizing the analytes into hydrophobic species by a complexing agent and extracts them trapped inside micelles formed from a nonionic surfactant, induced by temperature change. The cloud point extraction is based on the phenomenon that occurs with the formation of these hydrophobics aggregates by those micelles. Dithizone, DBTC, DMG, DDTC and APDC ligands were studied. The optimized parameters of cloud point extraction were: pH=7; $3,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ APDC; 0,5% m v⁻¹ Triton X-114; 60 °C while 10 min of thermal bath and 10 min of centrifugation time. A Cu (II) 50 mg L⁻¹ solution was used as a chemical modifier. The method was evaluated after optimized cloud point extraction's parameters conditions. It showed enrichment factor of 24-fold, but the limit of detection (0.24 µg L⁻¹) was higher than the values expected to samples of exposed and non exposed individuals. A recovery test was done and a satisfactory recovery result was provided, up to 91%.

Keywords: platinum, blood, cloud point extraction, atomic absorption, graphite furnace.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APDC: Pirrolidina Ditiocarbamato de Amônio, *Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate*

CMC: Concentração Micelar Crítica

CPE: Extração em Ponto Nuvem, *Cloud Point Extraction*

CTAB: Brometo de Hexadeciltrimetil Amônio, *Hexadecyltrimethylammonium Bromide*

DBTC: Dibenzil Ditiocarbamato, *Dybenzil Dithiocarbamate*

DDTC: Dietil Ditiocarbamato, *Diethyl Dithiocarbamate*

DETRAN: Departamento Estadual de Trânsito de São Paulo

DMG: Dimetilglioxima

ETV-ICP OES: Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado e Vaporização Eletrotérmica, *Electrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*

F AAS: Espectrometria de Absorção Atômica por Chama, *Flame Atomic Absorption Spectrometry*

FRX: Fluorescência de Raio-X

GF AAS: Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICP MS: Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*

ICP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*

LOD: Limite de Detecção, *Limit of Detection*

LOQ: Limite de Quantificação, *Limit of Quantification*

MIP OES: Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas, *Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Molécula do surfactante Triton X-114.....	35
Figura 2: Estruturas dos ligantes estudados: (a) dimetilglioxima (DMG); (b) ditizona; (c) dibenzilditiocarbamato de sódio (DBTC); (d) dietilditiocarbamato (DDTC); e (e) pirrolidinaditiocarbamato (APDC).....	37
Figura 3: Espectro de absorção de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v.v ⁻¹ de HCl, $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ de DBTC e meio de complexação (Pt + DBTC) nas mesmas concentrações das espécies individuais, em pH=6.....	46
Figura 4: Espectro de absorção de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v.v ⁻¹ de HCl $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ de DMG e meio de complexação (Pt + DMG) nas mesmas concentrações das espécies individuais, em pH=6.....	47
Figura 5: Espectro de absorção de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v.v ⁻¹ de HCl $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ de ditizona e meio de complexação (Pt + ditizona) nas mesmas concentrações das espécies individuais, em pH=6.....	47
Figura 6: Espectro de absorção de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v.v ⁻¹ de HCl $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ de DDTC e meio de complexação (Pt + DDTC) nas mesmas concentrações das espécies individuais, em pH=6.....	48
Figura 7: Espectro de absorção de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v.v ⁻¹ de HCl, $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ de APDC e meio de complexação (Pt + APDC) nas mesmas concentrações das espécies individuais, em pH=6.....	48
Figura 8: Sinais de absorbância de Pt, obtidos por GF AAS, na ausência (solução padrão de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt) e presença de pré-concentração com ditizona ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ligante, 0,5% m v ⁻¹ de Triton X-114, $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt e pH ~7).....	50
Figura 9: Sinais de absorbância de Pt, obtidos por GF AAS, na ausência (solução padrão de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt) e presença de pré-concentração com APDC e DDTC (0,1% m v ⁻¹ de ligantes, 0,5% de Triton X-114, $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt e pH~7).....	52
Figura 10: Sinais de absorbância de Pt, obtidos por GF AAS, em diferentes concentração dos ligantes APDC e DDTC.....	53
Figura 11: Valores de absorbância em função de diferentes valores de pH, mantendo fixo os outros parâmetros: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de APDC e 0,1% m v ⁻¹ de Triton X-114.....	56

Figura 12: Valores de absorvância em função de diferentes concentrações de Triton X-114, mantendo fixos os parâmetros: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de APDC e pH 7.....	58
Figura 13: Valores de absorvância em função de diferentes concentrações de APDC, mantendo fixos os parâmetros: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, 0,5% m v ⁻¹ de Triton X-114 e pH 7.....	59
Figura 14: Valores de absorvância em função de diferentes temperaturas de banho, mantendo fixos os parâmetros: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, 0,5% m v ⁻¹ de Triton X-114 e pH 7.....	61
Figura 15: Valores de absorvância em função de diferentes temperaturas de banho, mantendo fixos os parâmetros: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, 0,5% m v ⁻¹ de Triton X-114 e pH 7.....	61
Figura 16: Valores de absorvância em função de diferentes tempos de centrifugação, mantendo fixos os parâmetros: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, 0,5% m v ⁻¹ de Triton X-114 e pH 7.....	62
Figura 17: Curvas de pirólise e atomização para $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v v ⁻¹ de HCl, na ausência e presença de modificador químico (co-injetado 5 μg de Pd + 3 μg de Mg).....	66
Figura 18: Curvas de pirólise e atomização comparativa para $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v v ⁻¹ de HCl, na ausência e presença de modificador químico permanente 350 μg NbC e 250 μg de W + 200 μg de Ir.....	67
Figura 19: Curva analítica de calibração para Pt na ausência de modificador químico. Equação da reta: $y=0,000340x - 0,000742$, $R^2=0,991303$	69
Figura 20: Curva de pirólise e atomização para $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt na presença de 10 mg L^{-1} de Cu como modificador químico.....	74
Figura 21: Sinais de absorvância em função da variação da concentração de Cu como modificador químico convencional.....	75
Figura 22: Curvas analíticas na ausência (Equação da reta: $y=0,00034x - 0,000742$, $R^2=0,991303$) (a) e presença (Equação da reta: $y=0,008029x + 0,002623$, $R^2=0,997214$) (b) de pré-concentração.....	78
Figura 23: Sinais instrumental de absorvância para Pt: (a) Branco após aplicar o procedimento de extração em ponto nuvem na ausência de Pt; (b) $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt na ausência de pré-concentração; e (c) $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt na presença de pré-concentração.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentrações de Pt em fluídos biológicos de indivíduos expostos e não expostos.....	17
Tabela 2: Programa de aquecimento executado para digestão por micro-ondas.....	41
Tabela 3: Programa de aquecimento do GF AAS para determinação de Pt.....	68
Tabela 4: Programa de aquecimento do GF AAS para a determinação de Pt após a extração em ponto nuvem.....	72
Tabela 5: Parâmetros químicos e físicos otimizados para extração em ponto nuvem.....	76
Tabela 6: Características de métodos de extração em ponto nuvem aplicados para a pré-concentração e determinação de Pt em comparação ao método proposto nesse estudo.....	80
Tabela 7: Determinação de Pt em amostras de sangue de indivíduo portador de prótese femoral e indivíduo não exposto ocupacionalmente após adição de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pt.....	82

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Métodos analíticos de separação e pré-concentração aplicados às determinações de Pt	16
1.1.1. Extração e microextração em fase líquido	18
1.1.2. Microextração em fase sólida	19
1.1.3. Co-precipitação.....	19
1.1.4. Eletrodeposição	20
1.1.5. Extração em ponto nuvem	21
1.2. Métodos Analíticos diretos aplicados para a determinação de Pt	24
1.2.1. Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite	24
1.2.2. Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado	26
1.2.3. Fluorescência de Raio-X.....	27
1.2.4. Espectrometria de massas com fonte de plasma indutivo	29
2. OBJETIVO	32
3. EXPERIMENTAL	32
3.1. Equipamentos e acessórios	32
3.2. Reagentes e Soluções	34
3.3. Amostras de sangue total.....	35
3.4. Procedimentos	36
3.4.1. Escolha do ligante para complexação de Pt	36
3.4.2. Pré-concentração de Pt por extração em ponto nuvem.....	39
3.4.3. Digestão das amostras de sangue total e aplicação da extração em ponto nuvem	40
3.4.4. Otimização do programa de aquecimento do GF AAS para determinação de Pt na ausência de pré-concentração.....	42
3.4.5. Otimização do programa de aquecimento do GF AAS para determinação de Pt após pré-concentração por ponto nuvem	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	45

4.1. Avaliação da complexação de Pt pelos diferentes ligantes	45
4.2. Pré-concentração de Pt por extração em ponto nuvem	50
4.3. Otimização dos parâmetros para a extração em ponto nuvem	54
4.3.1. Estudo do pH do meio	54
4.3.2. Estudo da concentração de surfactante (Triton X-114).....	56
4.3.3. Estudo da concentração do ligante (APDC)	57
4.3.4. Estudo da temperatura e tempo do banho térmico	60
4.4. Programa de aquecimento do GF AAS para a determinação de Pt na ausência de pré-concentração	63
4.5. Parâmetros analíticos para a determinação de Pt na ausência de pré- concentração.....	68
4.6. Programa de aquecimento para determinação de Pt após pré- concentração em ponto nuvem	71
4.6.1. Influência do cobre usado como modificador químico convencional..	72
4.7. Parâmetros analíticos para a determinação de Pt após extração em ponto nuvem	76
4.8. Digestão assistida por micro-ondas e análises das amostras de sangue total	80
4.8.1 Avaliando a digestão com diferentes concentrações ácidas.....	80
4.8.2. Determinação de Pt e teste de adição e recuperação	81
5. CONCLUSÃO	84
6. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	86
SÚMULA CURRICULAR	i

1. INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, existe um grande contingente de veículos nas cidades brasileiras de porte médio e das grandes metrópoles, isso devido principalmente, a falta de planejamento e investimentos em transporte público urbano. Com isso, devido a necessidade de locomoção rápida, reflexo do ritmo de vida acelerado, e também na busca por conforto as pessoas preferem, cada vez mais, se deslocarem com seus próprios veículos. Essa situação tem estimulado o mercado de novos veículos e, conseqüentemente, as grandes montadoras a produzirem cada vez mais. De acordo com informações do Censo (IBGE, 2010) e do DETRAN, a relação habitantes/veículos na cidade de São Paulo é de 1,55, o que demonstra claramente essa realidade.

Os veículos automotivos podem emitir gases nocivos para o ambiente, originados da combustão incompleta do combustível no motor, tais como hidrocarbonetos (CH), monóxido de carbono (CO) e óxidos de nitrogênio (NO_x). Para minimizar as emissões desses gases para o ambiente, os carros atuais são dotados de conversores catalíticos, que tem a finalidade de converter esses compostos nocivos em outros menos agressivos ao ambiente e ao homem, por exemplo, N₂, O₂ e CO₂ (SOUSA, 2012).

Nos conversores catalíticos automotivos os promotores da rápida conversão são os metais do grupo da platina, sendo eles Pt, Pd e Rh (ZIMMERMANN *et al*, 2005). Porém, devido ao desgaste natural, esses elementos constituintes dos conversores catalíticos podem ser expelidos para o ambiente, na forma de materiais particulados, por volatilização ou junto com os gases da combustão. Desta forma, esses elementos podem acumular-se nos vários compartimentos: no ambiente

aquático, podendo ser absorvidos pela fauna marinha e/ou lacustre (FERREIRA; LIU, 2006); acumulados no solo, sendo incorporados às plantas e animais, e também, podem ser incorporados, via respiração, por animais terrestres e homens, devido à presença como material particulado bem fino no ar atmosférico. Considerando a grande quantidade de carros que circulam nas cidades e a obrigatoriedade do uso dos conversores catalíticos, as concentrações dos elementos Pd, Pt e Rh tendem a se acumular no ambiente, necessitando de atenção das autoridades de saúde, pois ainda não conhecemos os efeitos que esses elementos podem provocar aos seres vivos.

No geral, a utilização de amostras biológicas, tal como sangue, na investigação e no controle da exposição de elementos aos seres humanos vem sendo praticada há muito tempo, sendo possível encontrar diversos métodos já bem estabelecidos, para a realização de tais tarefas (TSALEV, 1984; SUBRAMANIAN, 1996; CORNELIS *et al.*, 1995). Amostras de sangue total ou frações do sangue e urina são geralmente utilizadas para se avaliar a exposição recente do indivíduo ao contaminante (ARRUDA-NETO *et al.*, 2009).

O tipo de amostra para investigações de natureza ambiental é dependente do nível de contaminação por um determinado elemento e, evidentemente, do tipo de informação pretendida. Nesses casos, prover informações sobre as concentrações totais dos elementos pode não ser suficiente, sendo necessário buscar informações nos diferentes compartimentos do ambiente, por fracionamento, ou mesmo pela análise de especiação química (CORNELIS *et al.*, 1995).

Os mais diversos tipos de amostras vêm sendo analisados para avaliar a extensão da contaminação por elementos do grupo da platina, dentre eles, destacam-se o ar (WISEMAN, 2009; ZEREINE, 2012), a água (ROTKO; ROTKO,

2014), o solo (JEAN-SORO *et al.*, 2013), os materiais vegetais (AKRIVI *et al.*, 2012), tecidos e fluídos biológicos (SPEZIA *et al.*, 2005), entre outros. Mesmo com esse cenário, os elementos do grupo da platina (com destaque Pt e Pd) não são encontrados em altas concentrações em nenhuma dessas matrizes, sendo suas determinações, geralmente, realizadas por métodos que apresentam média ou alta sensibilidade como, espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS) (CHAKRAPANI *et al.*, 2001; CHWASTOWSKA *et al.*, 2004; ÖZDEMİR, *et al.*, 2014; PRAVEEN *et al.*, 2006; ROJAS *et al.*, 2007; YE *et al.*, 2014), espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (BARBANTE *et al.*, 2001; BERMEA *et al.*, 2014; BOCCA *et al.*, 2004; CASTILLO *et al.*, 2012; EYBE *et al.*, 2013; SUZUKI *et al.*, 2014; TAYLOR *et al.*, 2012; ZHAO *et al.*, 2014), espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (BUKHBINDER *et al.*, 2009; PETROV *et al.*, 2014), fluorescência por Raio-X (ANTONOVA *et al.*, 2013; FONTÀS *et al.*, 2009; TAKAHASHI *et al.*, 2000) e por técnica eletroanalíticas como a voltametria por redissolução (ELGHALBAN *et al.*, 2014; GIUSSANI *et al.*, 2014; KOWALSKA *et al.*, 2014).

Em alguns casos é necessário realizar etapas de pré-concentração, visando melhoria dos limites de detecção dos métodos, o que será discutido e apresentado em seções seguintes.

1.1. Métodos analíticos de separação e pré-concentração aplicados às determinações de Pt

No geral, estudos com materiais biológicos apontam que as concentrações de metais do grupo da platina estão na ordem de ng/kg (ELLER *et al.*, 1989). Tais

níveis de concentração, como os valores apresentados na Tabela 1 (MESSERSCHMIDT *et al.*, 1992) representam um grande desafio para a Química Analítica, pois são muito baixos para que se tenham resultados com boa precisão e exatidão nas determinações, mesmo utilizando técnicas muito sensíveis, como GF AAS e ICP-MS. Como alternativa, para contornar os problemas inerentes às determinações desses elementos em tão baixas concentrações, etapas prévias de pré-concentração, com posterior determinação analítica frequentemente são necessárias.

Tabela 1 – Concentrações de Pt em fluídos biológicos de indivíduos expostos e não expostos.

Fluído Corporal	Faixa de Concentração (ng L⁻¹)	Média (ng L⁻¹)	n
Urina (exposto)	21 – 2900	680	27
Sangue (exposto)	32 – 180	81	11
Plasma (exposto)	95 – 280	170	5
Urina (não exposto)	0,5 – 14	3,5	14
Sangue (não exposto)	≤ 0,8 – 7	-	13
Plasma (não exposto)	≤ 0,8 – 7	-	13

Os métodos de separação e pré-concentração mais empregados são aqueles que envolvem extração em fase líquida, extração em fase sólida, co-precipitação, eletrólises e extração em ponto nuvem (CARASEK, 2002). Esses métodos, além de

garantir a pré-concentração do analito de interesse, possibilitam *clean-up* da amostra, promovendo a separação do analito de outras possíveis espécies interferentes, minimizando efeitos de matriz (CAMINO-SANCHEZ *et al.*, 2014).

1.1.1. Extração e microextração em fase líquido

Extração e microextração em fase líquida são métodos muito utilizados em procedimentos analíticos na separação e pré-concentração de analitos orgânicos e inorgânicos. Esses métodos consistem na partição dos analitos presentes em uma fase líquida doadora para uma fase líquida receptora, ou também chamada de fase extratora (YAN *et al.*, 2014). Essa partição ocorre pela diferença de solubilidade do analito nas diferentes fases, apresentando uma afinidade maior pela fase extratora, geralmente, um solvente orgânico. Aplicando esse método menores limites de detecção são alcançados, caso a relação entre volume de amostra/volume de extrator sejam considerados e a eficiência de extração seja alta.

A extração líquido-líquido convencional apresenta sérias desvantagens, como o uso de grandes volumes de solventes, geralmente, caros e alguns podem ter efeitos tóxicos, podendo ter a geração de grandes volumes de resíduo, há possibilidade de formação de emulsões e, dentro de certos limites, dificuldades em automatização. Para contornar tais desvantagens, a miniaturização desse método vem se tornando uma tendência. Assim, a microextração em fase líquido vem sendo cada vez mais aplicada, pois segue o mesmo princípio da extração líquido-líquido, porém, opera com quantidades muito menores de solvente, sendo compatível com o que propõe a Química Verde, contando com procedimentos mais rápidos e de menor custo.

Dentro do conceito da microextração em fase líquida, três variações do método podem ser destacadas e assim classificadas, gota pendente, microvolumes de solventes suportados por fibras ou membranas, e extração líquido-líquido dispersiva (AL-SAIDI; EMARA, 2014; KRYLOV *et al.*, 2011).

1.1.2. Microextração em fase sólida

A extração em fase sólida segue o princípio da partição, adsorção e troca iônica. Nessa técnica, os analitos são extraídos de fases líquidas ou vapores em uma fase adsorvente, sólida. Os mecanismos envolvidos na retenção e eluição estão relacionados com as forças intermoleculares entre o analito, os sítios ativos sobre a superfície do adsorvente e a matriz. Pela tendência de miniaturização, a microextração em fase sólida vem sendo amplamente utilizada nas suas diversas subdivisões: fase sólida suportada em fibra modificada ou não com fase extratora, fase sólida em formato tubular, fase sólida suportada e, mais recentemente, nanopartículas magnéticas modificada com fase estacionária de interesse para adsorção de espécies orgânicas e inorgânicas (VALENTE; AUGUSTO, 2000; SZULTKA *et al.*, 2014; ZAITSEV; ZUI, 2014). Todas essas versões podem ser aplicadas tanto com sistema em fluxo quanto em condições estacionárias.

1.1.3. Co-precipitação

A co-precipitação é o processo no qual substâncias solúveis se incorporam aos precipitados durante sua formação. Nesses casos, analitos de interesse podem ser arrastados junto com o precipitado de outra espécie, sendo então separado por

processos mecânicos e térmicos, como centrifugação ou evaporação. O processo de incorporação pode ser por adsorção superficial ou por oclusão. Em um trabalho de Gupta *et al* (1989), telúrio foi utilizado para co-precipitar elementos do grupo da platina presentes em rochas e minérios após sofrerem um processo de digestão ácida. O procedimento consiste em adicionar uma solução de telúrio à solução resultante da digestão e submeter a aquecimento até o ponto de ebulição. Em seguida se adiciona certa quantidade de cloreto de estanho (II), responsável pela redução do Te (IV) a Te metálico, levando a sua precipitação e a co-precipitação dos elementos do grupo da platina na forma de telureto. Nesse estágio a solução é aquecida até se notar a coagulação do precipitado. O sobrenadante é retirado com uma seringa ou pipeta, e o resultante é submetido à filtração. O precipitado retido no filtro é submetido à lavagem sequencial com ácidos (HCl, HNO₃ e água régia) de modo a garantir a conversão de todos os sais dos elementos do grupo da platina em cloretos, em um volume final de solução de 1 – 2 mL. A solução final foi analisada por GF AAS para a determinação dos elementos.

A co-precipitação garante melhores limites de detecção por se tratar de um método que permite a pré-concentração dos analitos. No trabalho de Gupta *et al.*, os valores dos limites de detecção (LOD) para Rh, Pd, Ir e Pt foram respectivamente 1,8; 5,0; 3,0 e 7,0 ng g⁻¹.

1.1.4. Eletrodeposição

A eletrodeposição, ou pré-concentração eletrolítica se baseia na aplicação de um potencial controlado por um determinado tempo, de maneira a reduzir na superfície do eletrodo o(s) analito(s), em geral, na forma metálica. Além da pré-

concentração, esse método é empregado para separar de maneira seletiva as espécies de interesse de possíveis interferentes presentes na solução da amostra, através do potencial controlado específico aplicado. A eletrodeposição pode ser executada em batelada ou adaptada a sistemas em fluxos com automação ou não, deixando os métodos mais versáteis, rápidos e simples (OLIVEIRA *et al.*, 2001).

Além de técnicas eletroanalíticas, tais como voltametria, condutometria, coulometria ou potenciometria para medidas quantitativas, essas técnicas podem ser combinados a outras como a espectrometria de absorção atômica (BATLEY; MATOUSEK, 1977). Quando o processo de eletrodeposição é combinado à espectrometria de absorção atômica, a pré-concentração se dá na superfície do eletrodo, sendo este posteriormente levado ao atomizador. O material eletródico pode ser de gota pendente de Mercúrio, fio de Tungstênio ou Iridio, bastão de carbono, etc.

1.1.5. Extração em ponto nuvem

Dentre os diferentes procedimentos de pré-concentração, a extração em ponto nuvem (CPE), se mostra como uma alternativa bastante interessante, visto que se empregam menores volumes de reagentes, não havendo a utilização de solventes orgânicos tóxicos como extratores, os quais são substituídos por surfactantes, ponto importante que vai de encontro das diretrizes recomendadas pela Química Verde. A extração em ponto nuvem se destaca por ser um procedimento extremamente simples e rápido, além de ser relativamente mais barato (OJEDA; ROJAS, 2012; SAMADDAR; SEN, 2014; BEZERRA; FERREIRA, 2006). A extração em ponto nuvem vem sendo aplicada em diversas determinações

de analitos inorgânicos (SHAH *et al.*, 2013) e orgânicos (XING; CHEN; ZHANG, 2014), análises de especiação (ALTUNAY; GÜRKAN, 2015), em procedimentos on-line com injeção em fluxo (BAKIRCIOGLU, 2012), para clean-up de interferentes seguida da determinação de interesse (SILVA, *et al.*, 2009), entre outras.

Para a extração em ponto nuvem é necessário utilizar surfactantes, os quais podem ser iônicos (e.g. brometo de cetiltrimetil amônio - CTAB) e não iônicos (e.g. (1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil-polietileno glicol – Triton X-114). Geralmente, trabalha-se com concentração do surfactante acima da concentração micelar crítica (CMC), no sentido de garantir a formação de micelas na solução de trabalho. A extração em ponto nuvem se baseia no fenômeno que ocorre com a formação de agregados com essas micelas, provocada por variação de temperatura. O intervalo de temperatura ao qual esse fenômeno ocorre é denominado de ponto nuvem. Na temperatura de ponto nuvem, o surfactante se torna hidrofóbico devido à desidratação da porção hidrofílica da micela, em condições de mais alta temperatura (MORADI; YAMANI, 2012), havendo assim, portanto, a separação da fase aquosa, sendo então posteriormente separado por diferença de densidades, ou mecanicamente, por centrifugação. As duas fases que se obtém são o sobrenadante aquoso, o qual contém surfactante abaixo da concentração micelar crítica (CMC), e a fase com alta concentração de surfactante, em menor volume, denominada de fase rica em surfactante contendo, na maioria dos casos, o analito de interesse (LIAN *et al.*, 2012).

Para que a extração do analito de interesse em ponto nuvem seja possível é necessário que esse tenha afinidade pela micela, o qual será arrastado juntamente com a fase rica em surfactante. Nesse caso, se o analito for uma molécula orgânica hidrofóbica, a separação pode ocorrer logo após a formação da micela e ponto

nuvem. Por outro lado, quando o analito de interesse for uma espécie iônica, por exemplo íons metálicos, é necessário promover a formação de reações prévias para a formação de complexos hidrofóbicos desses com ligantes para que tenham afinidade pela micela e sejam separados no ponto nuvem. Dessa maneira, o analito que antes estava diluído na solução aquosa da amostra é extraído juntamente com as micelas para um menor volume, na fase rica, promovendo assim a pré-concentração.

Para que uma maior eficiência na extração de íons metálicos seja alcançada, alguns parâmetros críticos devem ser otimizados. Esses parâmetros estão relacionados com a formação do complexo, tais como o pH da solução e a concentração do ligante, bem como a concentração de surfactante utilizado para a formação do ponto nuvem. Parâmetros físicos como a temperatura submetida às soluções, o tempo de incubação, tempo e velocidade de centrifugação também são investigados. No geral, esses parâmetros experimentais são estudados pelo método univariado, fixando todas as variáveis exceto aquela de interesse (CHAPPUY *et al.*, 2010).

O método de extração em ponto nuvem pode ser muito promissor para as determinações de Pt em amostras biológicas, particularmente em amostras de sangue, visto que as concentrações esperadas são muito baixas, estão na ordem de ng L^{-1} . De forma específica, as concentrações de Pt em sangue de populações expostas e não expostas podem ser utilizadas como biomarcadores para o monitoramento do grau de exposição de uma determinada população, por exemplo, ao intenso tráfego de carros (ZIMMERMANN *et al*, 2005).

1.2. Métodos Analíticos diretos aplicados para a determinação de Pt

1.2.1. Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite

A espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS) é uma técnica analítica bem consolidada, recomendada para determinações elementares de baixas concentrações, em diferentes tipos e natureza de amostras, sólidas, líquidas, em suspensão e mesmo gasosas, quando associadas a sistemas em fluxo (WELZ; SPERLING, 1999).

Apresenta vantagens como custo relativamente baixo de instrumentação quando comparada a outras técnicas, menor custo operacional, facilidade de operação, menor interferência espectral devido ao programa de aquecimento, eficientes corretores de fundo e a possibilidade de utilizar pequenos volumes e massas de amostra. A desvantagem, porém, se dá pela pequena faixa linear de trabalho, menor frequência analítica (em média 2 minutos por análise); apesar dos esforços para permitir determinações multielementares simultâneas, ainda pode ser considerada uma técnica monoelementar em sua concepção (AMORIM *et al.*, 2008; BUTLER *et al.*, 2015).

Considerando a baixa concentração de Pt esperada no sangue, não era objetivo deste projeto a determinação direta sem considerar o método de pré-concentração por ponto nuvem. No entanto, foi necessário estabelecer as melhores condições do programa de aquecimento, sem a etapa de pré-concentração, para permitir a comparação dos resultados obtidos pelo GF AAS na ausência e presença de pré-concentração por ponto nuvem. O programa de aquecimento, qual consiste de etapas de secagem, pirólise, atomização e limpeza, é responsável pela

eliminação da matriz e dos elementos concomitantes, assim como induzir a formação de espécies precursoras que darão origem ao elemento analito em seu estado livre e fundamental.

Gonçalves *et al* (2008), utilizaram GF AAS para a determinação de Pt, Pd e Rh na fumaça de escape de veículos automotivos mais antigos (sem conversor catalítico) e veículos novos (com conversores catalíticos). A fumaça de escape foi filtrada em filtros de celulose e as partículas expelidas coletadas durante a combustão do motor. Os filtros carregados com as partículas sólidas passavam por digestão ácida assistida por micro-ondas e a solução resultante contendo Pt era analisada. Nesse mesmo estudo, Pd e Rh eram analisados por ICP OES. Concluíram que na fumaça expelida por veículos novos, as concentrações de Pd, Pt e Rh eram superiores e estimadas em 5,4; 12,6 e 1,03 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

Akrivi *et al.* (2012) realizaram digestão ácida assistida por micro-ondas para a determinação de Pd, Pt e Rh por GF AAS em gramíneas que cresceram ao lado de estradas com intensa movimentação de veículos. Para não sofrer perdas significativas pela diluição da digestão, parte dos ácidos empregados foi evaporada, promovendo assim a pré-concentração dos analitos. Limite de detecção de 1,0 ng g^{-1} foi alcançado para Pd e Rh, e 2,0 ng g^{-1} para Pt.

Amostras de urina foram analisadas por Junior *et al.* (2010) para determinar Pt por GF AAS e também F AAS. As amostras de urina eram de pacientes que foram submetidos ao tratamento com drogas antitumorais (quimioterápicos como cisplatina e carboplatina). Como nos trabalhos mencionados anteriormente, as amostras de urina passaram por digestão ácida assistida por micro-ondas para redução da matriz orgânica. Os limites de detecção alcançados para F AAS e GF AAS foram, respectivamente, 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 4,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Concluíram que nessa faixa de

concentração, o método se mostrou concordante para a determinação de Pt em urina de pacientes ministrados com Cisplatina e Carboplatina.

1.2.2. Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) é amplamente utilizada para análises multielementares (BOSS; FREDEEN, 2004).

Caracteriza-se por ser multielementar, o que confere alta frequência analítica, rica em espectros com linhas atômicas e iônicas, o que amplia a capacidade analítica e permite a escolha de linhas fora de regiões de sobreposição de emissão de outras espécies interferentes e radiações de fundo (HILL, 2007).

Apresenta como limitação a baixa eficiência de introdução de amostra, geralmente por nebulização pneumática de soluções aquosas, ao intenso sinal de fundo provenientes dos processos do argônio do plasma (emissão, recombinação, etc.), e a baixa eficiência no processo de formação de átomos e íons. Apesar dessas limitações, graças aos espectrômetros de alta resolução do tipo Echelle, com grande eficiência na separação de linhas e aos detectores do tipo (CCD) e (CID), a sensibilidade da técnica tem melhorado consideravelmente, alcançando limites de detecção e quantificação da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ ($\mu\text{g g}^{-1}$) (BHASKARAN *et al.*; MANNING; GROW, 1997).

Nischkauer *et al.* (2013) utilizaram a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e vaporização eletrotérmica para introdução da amostra (ETV-ICP OES) para a determinação de Pd, Pt e Rh em amostras de planta. O uso de vaporização eletrotérmica para introdução das amostras aumentou

a sensibilidade do método, sendo possível atingir limites de detecção de $0,38 \mu\text{g g}^{-1}$ para Pt; $0,14 \mu\text{g g}^{-1}$ para Pd e $0,13 \mu\text{g g}^{-1}$ para Rh, menores do que aqueles conseguidos pelo método convencional.

Zhang *et al.* (2014) propuseram método para a determinação de Pd e Pt em amostras de rochas ultrabásicas do Great Dyke, Zimbábue, local conhecido por conter quantidades significativas destes elementos. As amostras de rochas sofreram fusão com NiS e co-precipitação com telúrio para separar e pré-concentrar os metais nobres de interesse. Esse método é compatível com grandes massas de amostra ($10 - 50 \text{ g}$). Os limites de detecção obtidos foram de 5 ng g^{-1} para Pt e $2,5 \text{ ng g}^{-1}$ para Pd. Balaram *et al.* (2013) trabalharam com método similar na determinação de metais preciosos, incluindo Pt e Pd, em amostras de rochas e minérios, porém, utilizando a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP-OES). Os elementos Pt e Pd sofreram separação das amostras de rochas e minérios por fusão com NiS, seguida por co-precipitação com telúrio. Mesmo com a heterogeneidade do material amostrado, após o processo de separação, boa precisão e desvios padrões baixos foram alcançados, e limites de detecção de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ para Pt e $1,9 \text{ mg L}^{-1}$ para Pd.

1.2.3. Fluorescência de Raio-X

A fluorescência de Raio-X (FRX) vem sendo usada desde a metade do século passado para análises elementares. Caracteriza-se como uma técnica não destrutiva, não necessitando preparo da amostra, sendo empregada, muitas vezes, em análises de interesse cultural, pinturas, esculturas, etc. Além disso, é uma técnica multielementar, permite análises de modo rápido e de baixo custo

(FERRETTI, 2009; FERRETTI, 2014). A interferência química de outros elementos coexistentes na matriz analisada é extremamente baixa e o preparo de padrões de amostra para cada determinação não é necessário. Porém para análise de traços é necessária uma etapa de pré-concentração muito eficiente, visto que FRX não é muito sensível (TAKAHASHI *et al.*, 2000). Dentre as principais variantes da FRX, se destacam: por dispersão de energia (ED-XRF), por dispersão de comprimento de onda (WD-XRF) e por reflexão total (TXRF). A fluorescência de Raio-X com reflexão total é a que apresenta os melhores LOD em estudos aplicando essa técnica (BUTLER *et al.*, 2006), porém muito menos sensível que as demais técnicas citadas nesse texto.

A fluorescência de Raio-X foi utilizada como técnica por Jean-Soro *et al.* (2013) para avaliar a distribuição de Pt entre diferentes componentes do solo. Foram avaliados a sorção de Pt em caulinita, hematita e ácido húmico. Verificou-se que Pt era sorvida em caulinita com maior grau de eficiência levando a conclusão que esse elemento estaria ligado a parte argilosa do solo, tendo os resultados permitido a avaliação do impacto da matriz solo em reter ou dispersar a Pt no ambiente urbano.

Fontàs *et al.* (2009) buscou melhorar os LODs para determinação de alguns metais, incluindo Pd e Pt, contidos em solução aquosa. Para alcançar tal melhora, foi empregado como estratégia a pré-concentração com membranas ativadas com trocador aniônico. A membrana ativada era colocada em solução contendo os íons dos elementos Pd e Pt sob constante agitação. Após esse processo, a membrana carregada com os íons era enxaguada com água deionizada e seca em temperatura ambiente antes da análise por FRX. O método proposto foi linear de 1 – 30 mg L⁻¹ para Pt e 1 – 50 mg L⁻¹ para Pd. Os LODs alcançados foram 0,014 e 0,015 mg L⁻¹ para Pt e Pd, respectivamente.

Antonova *et al.* (2014) avaliaram a possibilidade da determinação direta de Pt e Rh por fluorescência de Raio-X em catalisadores automotivos. Os catalisadores foram moídos até formar um pó fino para cominuição e homogeneização e foram analisados. O método de adição de padrão foi utilizado nesse estudo, sendo feita a correlação entre os sinais obtidos sem e com adição. Assim, os LODs foram calculados em 0,001 e 0,003 m m^{-1} e LOQs 0,005 e 0,010 m m^{-1} para Rh e Pt, respectivamente.

Takahashi *et al.* (2000) realizaram estudo em que propuseram um método de pré-concentração para determinação de 36 metais, incluindo Pd e Pt por FRX. Nesse estudo realizou-se extração líquido-líquido, empregando DDTC como agente quelante para a formação de complexos com os diferentes metais. O procedimento adotado consistiu em adicionar à mistura de íons metálicos um volume de DDTC com concentração definida, acetona e HCl concentrado, mantidos por 5 minutos. Após esse tempo, um volume de íon perfluorooctanoato (PFOA^-) foi adicionado e a mistura final foi centrifugada. O precipitado imiscível em água foi coletado em um filtro de papel por uma microseringa e seco em 70°C por 15 minutos, sendo posteriormente analisado por FRX. Com a aplicação do método, verificou-se que dos 36 elementos iniciais, apenas 11 eram recuperados no final, entre eles, Pd. O LOD estimado para Pd foi de $3,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

1.2.4. Espectrometria de massas com fonte de plasma indutivo

A espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) é considerada uma técnica versátil e espectrométrica de maior sensibilidade, para uma grande quantidade de elementos. Apresenta característica multielementar,

ampla faixa linear de trabalho, boa precisão na detecção de metais, metalóides e heteroelementos (incluindo não-metals, semi-metals e halogênios), e fornecendo informações isotópicas. A versatilidade está relacionada, principalmente, com a capacidade de acoplamento a técnicas de separação cromatográfica ou de eletroforese, sendo utilizada como detector para especiação química (PRÖFROCK; PRANGE, 2012). A instrumentação e operação são mais complexas, exigindo especialistas para as atividades de pesquisa e de análises. Contudo, a aplicação dessa técnica para análises em diversos segmentos, incluindo os estudos com metais do grupo da platina em diferentes matrizes é crescente, despontando como uma das mais utilizadas (SOUZA, 2010).

No trabalho realizado por Bocca *et al.* (2004), ICP-MS foi utilizado para determinar Pt, Pd e Rh em amostras de urina de dois grupos de populações monitoradas em duas cidades italianas, Foligno e Roma, sendo a primeira uma área rural com baixo tráfego de automóveis e a segunda conhecida pela densidade de seu tráfego de veículos. Como esperado, o trabalho mostra que indivíduos residentes em áreas sob intenso tráfego apresentam maior concentração desses metais. Apenas o Pd se mostrou com níveis constantes em ambas as populações. Apesar da maior concentração na população sob maior intensidade de veículos, tais níveis estão muito abaixo daqueles considerados como risco imediato de saúde, mas os autores recomendaram constante monitoramento destes elementos, visto que seus níveis aumentaram em dois graus de magnitude nos últimos 15 anos.

Spezia *et al.* (2005) determinaram Pt em amostras de urina por ICP-MS, e compararam os resultados obtidos por diferentes analisadores de massas, o quadrupolo (Q) e setor magnético (SM). Os LODs obtidos por Q e SM foram de 0,18 ng L⁻¹ e 0,05 ng L⁻¹, respectivamente. As amostras foram coletadas de população

com média de idade de 48,2 anos para homens e de 36,8 anos para mulheres. O valor médio de Pt encontrado nas amostras de urina foi de $4,13 \text{ ng L}^{-1}$, mostrando que esse tipo de análise pode ser feita sem problemas por ambos analisadores de massas.

Zereine *et al.* (2012) investigaram os metais do grupo da platina em material particulado, distribuídos em duas regiões distintas da Alemanha, uma urbana e outra rural. As determinações foram feitas com o método de diluição isotópica, por ICP MS. Materiais particulados de tamanhos diferentes foram avaliados. Os estudos apontaram que a maior concentração de Pt (média de $12,4 \text{ pg m}^{-3}$) estava presente em materiais particulados de maior tamanho e localizados na região urbana, enquanto a concentração média na região rural foi de 2 pg m^{-3} . Constaram que Pd se encontravam em maiores níveis, devido sua solubilidade, comparado à Pt. Compararam também a acumulação ao longo do tempo, assim como a influência das estações do ano e concluíram que no inverno apresentava o maior nível desses elementos, com crescentes concentrações ao longo dos anos. Por fim, populações de áreas urbanas estão mais expostas aos possíveis riscos desses metais, porém, devido à fatores meteorológicos e ao longo transporte de massa desses elementos na atmosfera, podem alcançar regiões com tráfego menos intenso de veículos, como nas regiões rurais.

Puls *et al.* (2012) avaliaram a bioacessibilidade de Pd e Pt advindas de materiais particulados urbanos. Nesse trabalho, assumindo o processo de remoção mucociliar que ocorre no sistema respiratório, tais partículas são ingeridas e consequentemente, transportadas para o trato gastrointestinal. O grupo avaliou a solubilidade desses elementos em um sistema que simula as condições na digestão, utilizando suco gástrico sintético. Após a digestão simulada, a solução resultante,

após tratamento, foi submetida a separação em coluna de troca catiônica para a retenção das espécies iônicas dos analitos, com posterior determinação das espécies eluídas por ICP-MS de alta resolução. Avaliaram as concentrações totais de Pd e Pt nos materiais particulados (MP¹⁰), sendo que a média encontrada para Pt foi de 9,9 pg m⁻³ e para Pd 10,6 pg m⁻³. Dessas concentrações, a fração bioacessível média para Pt foi de 26,2% m m⁻¹ e para Pd foi de 34,4% m m⁻¹. Concluíram, considerando a concentração total de Pd e Pt encontrados nos materiais particulados, que a bioacessibilidade, após a digestão gastrointestinal e a quantidade média de ar inspirado num período de 8 horas, era de 18 pg e 12 pg de Pd e Pt, respectivamente.

2. OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo principal o desenvolvimento de método para determinação de Pt em sangue total por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), visando aplicações como biomarcador de exposição ambiental por poluição veicular.

3. EXPERIMENTAL

3.1. Equipamentos e acessórios

Foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), modelo ZEE nit 60 (AnalytikJenaAG, Jena, Alemanha), dotado de lâmpadas de catodo oco, corretor de fundo baseado no efeito Zeeman com campo variável, forno

com aquecimento transversal, atomizador recoberto com grafite pirolítico e plataforma integrada (Z-tube, PIN-platform) e amostrador automático, modelo MPE60 (AnalytikJenaAG). Argônio com pureza 99,998% v.v⁻¹ (Air Products, São Paulo, Brasil) foi usado como gás de proteção do tubo de grafite e de purga, para eliminar os subprodutos oriundos do programa de aquecimento. As condições operacionais do espectrômetro para a determinação de Pt foram mantidas constantes em todos os experimentos: comprimento de onda 265,9 nm, corrente da lâmpada 6,0 mA e resolução espectral 0,2 nm.

Para a pesagem dos reagentes, foi utilizada uma balança analítica (Ohaus Adventurer, Mettler Toledo, São Paulo, Brasil) com precisão de até 0,0001 g.

Para a obtenção de espectros de absorção de platina em diferentes condições, na ausência e presença de diferentes ligantes, foi utilizado um espectrofotômetro de absorção molecular, modelo 8453 (Agilent Technologies, Califórnia, EUA), dotados de lâmpadas de tungstênio e de deutério e um arranjo de fotodiodos, que possibilitou a medição simultânea do espectro completo da região do ultravioleta e visível.

Uma centrífuga para tubos, modelo Q222TM (Quimis[®], Diadema, São Paulo, Brasil) foi empregada na separação da fase rica em surfactante após etapa do ponto nuvem.

Um agitador tipo Vortex, modelo Q220, (Quimis[®]), foi utilizado para auxiliar a solubilização da fase rica em surfactante após a adição do diluente (etanol + HNO₃ 0,1% v v⁻¹).

Um pHmetro, modelo DM 22 (Digimed, São Paulo, Brasil) foi empregado para ajuste de pH, durante o preparo das soluções tampões e reações de formação dos complexos.

A digestão das amostras de sangue total foram realizadas em um forno de micro-ondas de alta pressão, modelo UltraWAVE (Milestone, Sorisole, Itália), com pré-pressurização da cavidade com nitrogênio para contrabalançar a pressão gerada no interior dos frascos de digestão.

3.2. Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com água de elevado grau de pureza (18,2 MΩ cm), obtida em um deionizador com sistemas de ultrapurificação Milli-Q® (Millipore Corporation, Billerica, MA, EUA). As soluções analíticas de referência foram preparadas a partir de soluções estoques contendo $1000 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$ de platina (H_2PtCl_6 em $\text{HCl } 2 \text{ mol L}^{-1}$) (Merck, Darmstadt, Alemanha). Foram avaliados os seguinte reagentes como ligante para a platina, ditizona (Merck), dimetilglioxima (Mallinckrodt Inc. EUA), dibenzilditiocarbamato de sódio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), dietilditiocarbamato trihidratado (DDTC) (Sigma-Aldrich) e pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC) (Sigma-Aldrich).

O estudo com os diferentes modificadores para o GF AAS foi realizado a partir de soluções de $1000 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$ de W (VI) (Merck), 980 mg L^{-1} de Ir (III) em 10% HCl (Sigma-Aldrich), Nb (V) 1000 mg L^{-1} em HNO_3 (Sigma Aldrich), obtida a partir da digestão Nb_2O_5 com HF e HNO_3 , $(\text{PdNO}_3)_2$ 1000 mg L^{-1} em 6% HCl (Sigma-Aldrich), $1000 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$ de Mg(II) ($\text{Mg(NO}_3)_2$) em HNO_3 (Merck) e $1000 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$ Cu(II) (CuCl_2) em H_2O (Merck).

Para a realização da extração por ponto nuvem foi utilizado como surfactante não iônico Triton® X-114 (Sigma-Aldrich) (Figura 1), escolhido devido sua baixa temperatura de ponto nuvem ($\sim 23^\circ\text{C}$) e por apresentar viscosidade alta quando

submetido ao banho de gelo. Uma solução estoque de 20% m v⁻¹ desse surfactante foi preparada com estoque para posteriores diluições.

Figura 1 – Molécula do surfactante não-iônico Triton X-114.

Hidróxido de sódio (Merck), ácido clorídrico (Merck), ácido acético (Merck), ácido fosfórico (Merck) foram utilizados para o ajuste de pH e no preparo das soluções tampões. Na digestão da amostra de sangue foi utilizado H₂O₂ (Merck) combinado com ácido nítrico (Merck).

3.3. Amostras de sangue total

Amostras de sangue de um portador de prótese femoral e de um voluntário, não exposto ocupacionalmente foram utilizados na avaliação do método proposto.

A amostra de portador de prótese foi fornecida pelo grupo de pesquisa em ortopedia, do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Esta amostra foi coletada, respeitando todos os critérios éticos em pesquisa.

A amostra de sangue do voluntário (o autor dessa pesquisa) foi coletada no Laboratório de Análises Clínicas, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Universidade de São Paulo, em vacutainer[®] contendo heparina.

3.4. Procedimentos

3.4.1. Escolha do ligante para complexação de Pt

Algumas espécies ligantes foram avaliadas com o propósito de verificar possíveis formações de complexos com o elemento platina, para posterior aplicação no método de extração em ponto nuvem. Para isso, avaliou-se os espectros de absorção UV-visível para soluções contendo apenas Pt, contendo apenas o ligante e contendo Pt + ligante. Os ligantes empregados nesse estudo foram dibenzilditiocarbamato de sódio (DBTC), dimetilglioxima (DMG), ditizona, dietilditiocarbamato (DDTC) e pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC). Na Figura 2 estão representadas as fórmulas estruturais dos ligantes mencionados.

A dimetilglioxima é um complexante muito conhecido em reações de identificação de Ni e Pd, devido a formação de um complexo com coloração intensa, facilmente distinguível na região do visível (MOGHADDAM, 2011). Têm em sua estrutura dois grupos amina, os quais são os sítios de complexação, devido a presença de pares de elétrons livres nos átomos de nitrogênio.

A ditizona (difeniltiocarbazona) é um reagente orgânico amplamente empregado em determinações de metais por espectrofotometria de absorção molecular para fins analíticos. É solúvel em solventes orgânicos e insolúvel em água, em meios de pH < 7. Em pH > 7 torna-se solúvel em meio aquoso. Os metais reagem com a ditizona formando complexo não polar, o que é requerido para a extração em ponto nuvem (PYTLAKOWSKA *et al.*, 2013). A complexação pela ditizona se dá pelo grupo tiol e aminas, presentes na estrutura. Há a formação de ligação entre o grupo tiol de uma molécula de ditizona e o íon metálico, na qual o

metal substitui o hidrogênio no grupo tiol, enquanto o nitrogênio forma uma ligação coordenada.

Figura 2 – Estruturas dos ligantes estudados: (a) dimetilglioxima (DMG); (b) ditizona; (c) dibenzilditiocarbamato de sódio (DBTC); (d) dietilditiocarbamato (DDTC); e (e) pirrolidinaditiocarbamato (APDC).

Em geral, ditiocarbamatos (DBTC, DDTC e APDC), são os reagentes quelantes mais eficientes empregados em extração por ponto nuvem para pré-concentração de espécies iônicas metálicas. Ditiocarbamatos são análogos aos carbamatos, no qual ambos os átomos de oxigênio são substituídos por átomos de

enxofre. Esses grupos tióis, então, são os responsáveis por formar as ligações com os íons metálicos, dando origem aos complexos. Ditiocarbamatos são ligantes altamente versáteis para a maioria dos grupos metálicos. A formação de complexos é bem rápida, o que é conveniente para qualquer procedimento analítico, assim como, há a possibilidade de empregá-los em sistemas *on-line* de pré-concentração (PYTLAKOWSKA *et al.*, 2013).

Para realização do estudo exploratório, usando espectrofotometria UV-visível, solução estoque de ditizona foi preparada para $3,9 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ dissolvendo-se 50 mg do composto em 50 ml de etanol. Soluções estoques de 1% m v⁻¹ de dimetilglioxima e dibenzilditiocarbamato foram preparadas dissolvendo-se 0,5 g dos reagentes para 50 mL de água e etanol, respectivamente. Soluções estoque de dietilditiocarbamato e pirrolidinaditiocarbamato de amônio (10% m v⁻¹) foram preparadas dissolvendo-se 5 g dos reagentes em 50 mL de água e etanol, respectivamente. Essas soluções estoques dos ligantes foram empregadas, após diluições adequada, para complexação da Pt.

Um espectrofotômetro de absorção molecular (UV-Vis) foi utilizado para verificar quais desses ligantes formavam complexos com Pt. Os espectros foram obtidos variando-se o comprimento de onda de 300 nm a 850 nm, em modo de varredura. Foram estabelecidas condições de reação, contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Pt com $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ dos ligantes, em pH ~ 6,0. Os espectros foram obtidos para soluções dos ligantes ($1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), da solução de Pt ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e das soluções das misturas.

3.4.2. Pré-concentração de Pt por extração em ponto nuvem

Após selecionar os ligantes mais promissores, foram adotadas condições controladas (pH = 6; 0,5% m v⁻¹ de Triton X-114, 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de ditizona, 0,1% m v⁻¹ de DDTC e APDC, 10 e 100 µg L⁻¹ de Pt) para avaliar, simultaneamente, a viabilidade do procedimento de extração em ponto nuvem.

As misturas foram manualmente agitadas, por cerca de 1 minuto, e submetidas ao banho térmico, à 45°C, por 10 minutos. Posteriormente, as misturas foram centrifugadas com velocidades de 3400 rpm, por 10 minutos. Em seguida, as misturas, com fases separadas, foram imersas em banho de gelo, por 5 minutos. Após esse tempo, os sobrenadantes aquosos foram separados das fases ricas, utilizando uma micropipeta. As fases ricas em surfactante foram dissolvidas com 0,5 mL de etanol acidulado (0,1% v v⁻¹ de HNO₃). As soluções obtidas das diluições das fases ricas, para cada ligante, foram analisadas por GF AAS. Os valores de absorbâncias obtidos para as soluções resultantes das extrações em ponto nuvem foram comparados com aquele obtido com solução padrão de 10 (DDTC e APDC) e 100 µg L⁻¹ (ditizona) de Pt, visando avaliar o ganho de sinal, após a pré-concentração.

A fim de se obter as melhores conclusões a respeito da capacidade extratora dos ligantes, variaram-se as concentrações dos mesmos empregados no processo, sendo os sinais comparados ao obtido na ausência de pré-concentração. Soluções com 0,05% m v⁻¹ a 1% m v⁻¹ de DDTC e APDC foram utilizadas para a comparação. Esse procedimento mostrou que o APDC foi o melhor ligante para a complexação de Pt. Sendo assim, fez-se a otimização dos outros parâmetros apenas para o ligante APDC.

Foram realizados experimentos para a otimização dos parâmetros químicos como pH (2 a 12, com soluções tampões de $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ (pH~2), HAc/Ac^- (pH~5), $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ (pH~7), $\text{HPO}_4^{2-}/\text{PO}_4^{3-}$ (pH~12) ajustados com adições adequadas de HNO_3 e NaOH), concentração de Triton X-114 (0,1% m v⁻¹ a 2% m v⁻¹), concentração do ligante APDC (0,003 mol L⁻¹ a 0,13 mol L⁻¹), de maneira a obter as melhores condições para a extração. Em todos os casos, os estudos foram realizados empregando-se 10 µg L⁻¹ de Pt em meio de 0,1% v v⁻¹ de HCl, devidamente diluída a partir de uma solução de referência de 1000 mg L⁻¹ de Pt (IV) em meio de 2 mol L⁻¹ de HCl.

Na sequência dos estudos, foram avaliados os parâmetros físicos como temperatura (25°C a 80°C), tempo do banho (5 min a 20 min) e tempo de centrifuga (5 min a 40 min), relacionados à formação e extração por ponto nuvem.

3.4.3. Digestão das amostras de sangue total e aplicação da extração em ponto nuvem

As amostras de sangue total sofreram digestão ácida em forno de micro-ondas, visando a determinação de Pt, após a aplicação do método de extração em ponto nuvem.

Com o intuito de minimizar a diluição final da solução do digerido e, conseqüentemente, perda de detectabilidade, foi feito um estudo de digestão com ácido diluído para encontrar a menor quantidade de ácido que garantisse a melhor eficiência da digestão. Sendo assim, foram avaliadas diferentes condições para concentrações finais de HNO_3 (1,5% v v⁻¹; 5,5% v v⁻¹ e 20% v v⁻¹).

Um volume de 200 μL de amostra de sangue total foi inserido diretamente nos frascos de digestão. Então foram adicionados os reagentes: 0,15 mL de HNO_3 + 1 mL de H_2O_2 + 4,85 mL de H_2O para concentração final de HNO_3 de 1,5% v v⁻¹; 0,5 mL de HNO_3 + 1 mL de H_2O_2 + 4,5 mL de H_2O para concentração final de HNO_3 de 5,5% v v⁻¹; 1,85 mL de HNO_3 + 1 mL de H_2O_2 + 3,15 mL de H_2O para concentração final de HNO_3 de 20% v v⁻¹. Os frascos foram colocados em um suporte com 15 posições, que por sua vez foi posicionado dentro de um frasco maior de Teflon[®].

Ao frasco maior foram adicionados 130 mL de H_2O , 5 mL de H_2O_2 (35% v v⁻¹) e 2 mL de H_2SO_4 (concentrado), mantendo os frascos de digestão parcialmente imersos nesta solução. A função do H_2SO_4 nesta solução é melhorar o aquecimento da solução por efeito de migração iônica, enquanto que o H_2O_2 é adicionado para neutralizar eventuais vazamentos de gases gerados pela digestão. Após o fechamento da cavidade, a mesma era pressurizada com 40 bar de Nitrogênio e o programa de aquecimento, descrito na Tabela 2, era aplicado.

Tabela 2: Programa de aquecimento executado para digestão por micro-ondas

Temperatura interna	Temperatura externa	Rampa	Patamar
(°C)	(°C)	(min)	(min)
140	60	5	1
180	60	2	1
200	60	2	5

Após a digestão, os frascos foram resfriados e as soluções resultantes foram transferidas para tubos de polipropileno (Falcon) de 15 mL de volume total.

A solução digerida resultante, devida sua concentração ácida, foi neutralizada com volume suficiente de NaOH (10 mol L^{-1}), com posterior ajuste de pH pela adição de 1 mL de solução tampão ($\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{HPO}_4^{2-}$, $\text{pH}=7$; $1,0 \text{ mol L}^{-1}$). Após fixar o pH do meio, aplicou-se o método de extração em ponto nuvem para a determinação de Pt adicionando 1 mL de APDC ($5\% \text{ m v}^{-1}$), seguida de 0,5 mL de Triton X-114 ($10\% \text{ m v}^{-1}$), submetendo a 1 minuto de agitação antes de levar ao banho térmico, por 10 min, a 60°C . O tempo de centrifugação foi de 10 min, com subsequente banho de gelo por 5 min. Após esse tempo, a solução aquosa sobrenadante foi separada da fase rica em surfactante utilizando-se uma micropipeta. À fase rica em surfactante foi adicionado o diluente (etanol acidulado com $1\% \text{ v v}^{-1}$ de HNO_3). Um volume de $20 \mu\text{L}$ da solução resultante foi injetado diretamente no tubo de grafite do GF AAS. O teste de adição e recuperação foi realizado comparando-se os valores de absorbância integrada obtidos das soluções 1 , 5 e $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, na ausência e presença das soluções das amostras.

3.4.4. Otimização do programa de aquecimento do GF AAS para determinação de Pt na ausência de pré-concentração

A otimização do programa de aquecimento no GF AAS tem como finalidade obter informações a respeito das características térmicas do(s) analito(s) e da matriz assim como, do processo de volatilização e atomização do(s) analito(s) de interesse (WELZ; SPERLING, 1999). O estudo das características térmicas do elemento Pt foi realizado de maneira a se obter a melhor condição de temperatura de pirólise e de atomização, buscando a melhor eficiência de atomização e, conseqüentemente, um maior ganho de sinal analítico. O estudo foi dividido em duas etapas, sendo a primeira

a otimização do programa para encontrar a melhor temperatura de pirólise e a segunda para encontrar a melhor temperatura de atomização. Utilizou-se para esse estudo uma solução analítica de referência de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt^{4+} em $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl.

A melhor condição de pirólise foi investigada variando-se a temperatura do programa de aquecimento entre 800 e 2000°C , mantendo-se fixa a temperatura de atomização em 2400°C . Após definir a melhor temperatura de pirólise, 1500°C , avaliou-se a melhor condição de atomização, variando-se a temperatura de 2000 a 2600°C , mantendo-se fixa a temperatura de pirólise. Em ambos os estudos, tanto na etapa de pirólise quanto na atomização, foram investigados os tempos de rampa ($^{\circ}\text{C s}^{-1}$) e patamar (s). O tempo de rampa foi investigado, variando-se os valores de 10 a $200^{\circ}\text{C s}^{-1}$ e o patamar foi investigado na faixa de 5 a 30 s.

A otimização do programa de aquecimento foi feita na presença e ausência de modificadores químicos. Em qualquer um dos casos, uma alíquota de $20 \mu\text{L}$ da solução de Pt era injetada no interior do tubo de grafite com amostrador automático.

A influência do programa de aquecimento nos resultados obtidos foi investigada na presença de modificadores permanentes, com a finalidade de minimizar a possível formação de carbetos entre platina e o carbono do tubo e também modificadores convencionais em solução.

Em geral, o modificador permanente é depositado na superfície da plataforma de grafite com o intuito de condicionar a superfície desta para evitar reações entre analito e grafite da plataforma, ou mesmo para estabilizar o analito de interesse (LEITE, 2010). No estudo com os modificadores permanentes, as plataformas de grafite foram modificadas com $350 \mu\text{g}$ de carbeto de nióbio (NbC), com procedimento e programa de aquecimento previamente proposto (SOUZA, 2010), ou

com mistura de 250 µg de W + 200 µg de Ir, também usando procedimento e programa de aquecimento previamente proposto (LIMA *et al.*, 1998).

Além dos modificadores permanentes uma mistura contendo 5 µg de Pd + 3 µg de Mg foi investigada como modificador químico co-injetado (10 µL) com a solução de Pt. Soluções de Cu com diferentes concentrações (10, 50 e 100 mg L⁻¹) também foram investigadas como modificador químico para Pt.

Após otimização do programa de aquecimento, investigaram-se alguns parâmetros analíticos para a determinação de Pt em condições de ausência de pré-concentração. Soluções analíticas, para calibração do GF AAS, foram preparadas, após diluições sucessivas da solução estoque, no intervalo de concentração de 10 – 150 µg L⁻¹. Alíquotas de 20 µL foram injetadas no tubo de grafite, na ausência de modificadores químicos.

As medidas foram realizadas em triplicata e foram feitas dez medidas do branco (HCl 0,1% v v⁻¹) para calcular o limite de detecção (LOD).

3.4.5. Otimização do programa de aquecimento do GF AAS para determinação de Pt após pré-concentração por ponto nuvem

A otimização do programa de aquecimento, na presença da solução proveniente da fase rica em Triton X-114, após extração em ponto nuvem, foi realizada de forma semelhante aquele estudo feito na ausência de pré-concentração, buscando as melhores condições de pirólise e atomização. Os mesmos intervalos de temperatura, descritos na otimização do programa de aquecimento na ausência de pré-concentração foram investigados. Nesse caso,

também foi investigado o uso de solução de 50 mg L⁻¹ de Cu²⁺ como modificador químico co-injetado (10 µL).

Após estabelecer o programa de aquecimento, avaliaram-se os parâmetros analíticos com pré-concentração por extração em ponto nuvem. Para isso, soluções analíticas para calibração do GF AAS foram preparadas, no intervalo de concentração de 1 – 20 µg L⁻¹ em 0,1% v v⁻¹ de HCl. Todas as soluções analíticas, inclusive o de branco, foram submetidas ao procedimento de separação antes de serem amostrados pelo amostrador automático do forno de grafite. As medidas foram realizadas em triplicata e foram feitas dez medidas do branco, de modo a se calcular o limite de detecção (LOD).

O fator de enriquecimento foi calculado pela razão entre os coeficientes angulares das curvas analíticas antes e após o procedimento de pré-concentração.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Avaliação da complexação de Pt pelos diferentes ligantes

O estudo prévio foi feito com o propósito de investigar quais dos ligantes selecionados formariam complexos com a Pt. Para isso, avaliou-se, de uma forma bastante simples, espectros de absorção, obtidos por espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-visível, para soluções contendo apenas Pt, soluções dos ligantes e complexos Pt-ligante. Os ligantes empregados nesse estudo foram dibenzilditiocarbamato (DBTC), dimetilglioxima (DMG), ditizona, dietilditiocarbamato (DDTC) e pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC).

As Figuras 3 a 7 mostram os gráficos obtidos a partir das varreduras das diferentes soluções.

Figura 3 – Espectro de absorção de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v v⁻¹ de HCl, $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de DBTC e meio de complexação (Pt + DBTC) nas mesmas concentrações das espécies individuais, em pH=6.

Figura 4 – Espectro de absorção de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v v⁻¹ de HCl $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de DMG e meio de complexação (Pt + DMG) nas mesmas concentrações das espécies individuais, em pH=6.

Figura 5 – Espectro de absorção de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v v⁻¹ de HCl $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de ditizona e meio de complexação (Pt + ditizona) nas mesmas concentrações das espécies individuais, em pH=6.

Figura 6 – Espectro de absorção de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v v⁻¹ de HCl $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de DDTC e meio de complexação (Pt + DDTC) nas mesmas concentrações das espécies individuais, em pH=6.

Figura 7 – Espectro de absorção de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Pt em 0,1% v v⁻¹ de HCl, $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de APDC e meio de complexação (Pt + APDC) nas mesmas concentrações das espécies individuais, em pH=6.

Os espectros obtidos para soluções de DBTC, DMG, APDC e DDTc mostram que, em princípio, não há nenhuma absorção de radiação na região do visível. A espécie mais provável do íon Pt, em meio de HCl, é o complexo formado com íons cloreto (PtCl_6^{2-}) (REDDY *et al.*, 2013), que também não apresentou absorção na região do espectro investigada. Nas varreduras das soluções contendo o íon Pt e os ligantes, em condições para formação de complexo, não se observou formação de bandas de absorção na região do visível para DBTC, DMG, DDTc e APDC. Os perfis dos sinais de absorbância nos intervalos espectrais investigados, apresentados pelas misturas Pt-DBTC e Pt-DMG, mostraram que não há sinais evidentes de absorção também na região do UV (abaixo de 400 nm), sendo observado perfis semelhantes ao da solução de Pt (IV) na ausência do ligante.

Para os perfis do DDTc e APDC, o que se pode observar é um efeito oposto ao observado nos perfis do DBTC e DMG, onde os sinais aumentaram para as misturas de Pt-DDTc e Pt-APDC, sendo mais acentuado no Pt-APDC.

Para a solução contendo apenas Ditizona, podem-se observar absorções em dois comprimentos de onda distintos, um com máximo em 487 nm e outro 613 nm. Na presença da solução de Pt-Ditizona observaram-se dois picos, sendo um em 405 nm, e outro com máximo em 597 nm. O pico de maior intensidade em 597 nm, mostra que ocorreu a formação de complexo entre Pt-Ditizona, com forte absorção na região do visível.

Com base nesse estudo, foram selecionados os ligantes ditizona, DDTc e APDC para avaliar o desempenho na pré-concentração de Pt em ponto nuvem.

4.2. Pré-concentração de Pt por extração em ponto nuvem

Apesar dos resultados das varreduras no UV-vis indicarem que houve a formação do complexo Pt-Ditizona, não foi observado pré-concentração de Pt após extração em ponto nuvem, conforme mostrado na Figura 8. Os valores de absorbância, obtidos por GF AAS, para a solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt (pH ~ 7), na ausência e presença de extração por ponto nuvem, foram $\text{Abs.}=0,03245$ e $\text{Abs.}=0,00848$, respectivamente.

Figura 8 – Sinais de absorbância de Pt, obtidos por GF AAS, na ausência (solução padrão de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt) e presença de pré-concentração com ditizona ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ligante, $0,5\% \text{ m v}^{-1}$ de Triton X-114, $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt e pH ~ 7).

Como não foi observada pré-concentração de Pt com o ligante ditizona, mas foi observado evidência da formação do complexo, por espectrofotometria UV-vis, podemos considerar que se ocorreu a formação do complexo Pt-ditizona o mesmo poderia ter características polares, dificultando a extração micelar. É importante

considerar que espécies com caráter hidrofílico terão menor preferência na extração em ponto nuvem. Outra possível explicação é o fato de a solução de ditizona ter sido preparada em meio de etanol, que, mesmo em pequena porcentagem na solução analítica final para a complexação ($\sim 1,5\% \text{ v v}^{-1}$), poderia comprometer a indução do fenômeno de formação do ponto nuvem, afetando a formação do agregado micelar e, conseqüentemente, a eficiência de extração (BEZERRA, FERREIRA, 2006).

Utilizando as mesmas condições aplicadas para Ditizona, verificou-se que ocorreu pré-concentração de Pt na presença dos ligantes DDTC e APDC. Os sinais de absorbância para GF AAS, obtidos na ausência e na presença da extração em ponto nuvem, indicam que ocorreu pré-concentração do analito ($10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt), como pode ser observado na Figura 9.

Como observado na figura, o sinal de absorbância de Pt, obtido por GF AAS, na presença de pré-concentração usando o ligante DDTC foi 2 vezes maior (Abs. = 0,008845) do que aquele observado para a solução analítica de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt (Abs. = 0,004187). No caso do ligante APDC, foi obtido um sinal de absorbância de Pt significativamente maior (Abs. = 0,07809) do que solução analítica de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, mostrando que, para esse ligante, a extração e pré-concentração ocorreram com boa eficiência, com um ganho de sinal de, aproximadamente, 20 vezes. Apesar do expressivo ganho de sinal analítico, o desvio padrão ($n=3$) das medidas em GF AAS foi alto, indicando ser necessária a otimização do método.

Figura 9 – Sinais de absorbância de Pt, obtidos por GF AAS, na ausência (solução padrão de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt) e presença de pré-concentração com APDC e DDTC ($0,1\% \text{ m v}^{-1}$ de ligantes, $0,5\%$ de Triton X-114, $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt e $\text{pH} \sim 7$).

Com os resultados promissores obtidos para pré-concentração de Pt usando os ligantes DDTC e APDC, fez uma investigação para avaliar a influência da concentração do ligante na eficiência de extração.

Os resultados apresentados na Figura 10 mostram que o aumento da concentração de DDTC, refletiu no aumento do sinal de absorbância de Pt para concentrações do ligante acima de $0,5\% \text{ m v}^{-1}$. Para concentração de $1,0\% \text{ m v}^{-1}$ de DDTC a pré-concentração foi cerca de 5 vezes maior do que quando se utilizou $0,5\% \text{ m v}^{-1}$ desse ligante. Esses resultados mostram que a proporção Pt/DDTC é crítica para a formação do complexo, sendo a complexação mais eficiente com excesso do reagente.

Figura 10 – Sinais de absorbância de Pt, obtidos por GF AAS, em diferentes concentração dos ligantes APDC e DDTC.

Os resultados observados para o APDC mostram que esse ligante é muito mais eficiente na formação do complexo com Pt, mesmo em concentrações de 0,05% m v⁻¹, onde foi possível obter ganho de sinal de absorbância de, aproximadamente, 10 vezes. Para 1,0% m v⁻¹ desse ligante, o aumento no sinal de absorbância de Pt observado, após a pré-concentração foi de, aproximadamente, 26 vezes, comparado ao sinal obtido na ausência de pré-concentração. A proporção Pt/APDC não foi significativa como observado no caso do DDTC.

Com base nesses resultados o ligante APDC foi escolhido para otimização das condições de separação e pré-concentração de platina.

4.3. Otimização dos parâmetros para a extração em ponto nuvem

Foram realizados experimentos para a otimização dos parâmetros pH, concentração de Triton X-114, concentração do APDC, tempo e temperatura para formação do ponto nuvem e tempo de centrifugação, de maneira a obter as melhores condições para a extração de Pt.

4.3.1. Estudo do pH do meio

O pH da solução é um fator importante na complexação e extração de analitos com ligantes que possuam caráter ácido-básico. Para que a maior eficiência de extração seja alcançada, é necessário que o complexo apresente uma forma neutra (BEZERRA; FERREIRA, 2006). Diferentes valores de pH influenciam diretamente nas reações de complexação, pois as formas protonadas e desprotonadas dos ligantes são dependentes das concentrações de H^+ do meio e, consequentemente, com a reatividade do analito de interesse.

De acordo com a natureza do ligante, diferentes valores de pH podem induzir uma forma ou outra da espécie ligante. Lembrando que a forma ionizada do ligante é quem deve estar em maior concentração, para que haja a complexação com os íons do analito. Se o ligante for uma base conjugada de um ácido fraco, baixos valores de pH protonará os sítios de ligação, qual passará a sua forma neutra, desativando a molécula para a formação do complexo. Se o ligante for um ácido conjugado de uma base fraca, o inverso é observado, onde altos valores de pH induzem a desprotonação da molécula, que por sua vez passa a apresentar uma forma neutra,

sendo incapaz de formar o complexo. E ainda, altos valores de pH podem induzir a complexação do analito metálico por íons hidroxilas (OH^-), sofrendo hidrólise.

O ligante APDC tem caráter de ácido fraco, apresentando $\text{pK}_a = 2,94$ (GOI; CADORE, 1998). O que se espera então é que em meio muito ácido, a extração seja menos eficiente, pois nesse meio há a protonação do grupo tiol, e a espécie se torna neutra, não formando o complexo.

O pH foi investigado no intervalo, aproximado de 2 a 12. Observaram os melhores sinais analíticos de absorbância no intervalo de pH entre 4 e 7, conforme ilustrado na Figura 11. Como previsto, em pH muito baixo, houve a protonação do ligante diminuindo a sua solubilidade no meio aquoso, havendo sua precipitação, não sendo possível a complexação para aplicar o método de extração. Para pH com valores altos, a diminuição no sinal obtido após a extração pode decorrer da competição existente entre o ligante e os íons OH^- pela complexação dos íons de Pt^{4+} . Sendo assim, como condição ótima, $\text{pH}=7$ foi escolhido e fixado nos estudos dos outros parâmetros.

Figura 11 – Valores de absorbância em função de diferentes valores de pH, mantendo fixo os outros parâmetros: 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de APDC e 0,1% m v^{-1} de Triton X-114.

4.3.2. Estudo da concentração de surfactante (Triton X-114)

Como princípio geral, a extração em ponto nuvem será mais eficiente quando um surfactante hidrofóbico for utilizado (BEZERRA; FERREIRA, 2006). Entre os surfactantes com essa característica, Triton X-114 é o mais frequentemente usado. Esse surfactante tem como outras características interessantes sua baixa temperatura de ponto nuvem (de 21 – 26 °C) e alta viscosidade quando submetido ao banho de gelo. Por apresentar temperatura de ponto nuvem mais baixa, é possível proceder com a extração em temperaturas mais próximas da temperatura ambiente, ideal para casos em que o analito é uma espécie termo lábil. A maior viscosidade facilita a separação da fase rica em surfactante do sobrenadante aquoso. Após a separação de fases, a fase rica em surfactante remanescente é

dissolvida. A dissolução desta fase rica requer o uso de um solvente, como metanol ou etanol e agitação mecânica, permitindo a solubilização completa para que seja facilitada a introdução da amostra no tubo de grafite do GF AAS, visando à diminuição dos desvios referentes a essa etapa de introdução.

Nesse estudo, a concentração de Triton X-114 foi investigada no intervalo entre 0,1 e 2% m v⁻¹ (Figura 12). É necessário informar que nesse intervalo de concentração, o Triton X-114 está muito acima da Concentração Micelar Crítica (CMC). Observou-se que para concentrações mais altas de surfactante, um maior volume de fase rica era obtido, sendo necessário utilizar um maior volume de diluente para a dissolução, resultando em uma perda no fator de pré-concentração por conta da diluição, conseqüentemente, comprometendo o ganho de sinal do método. A concentração de Triton X-114 otimizada foi de 0,5% m v⁻¹. Para concentrações menores do que 0,5% m v⁻¹ observou-se queda no ganho de sinal. Devido à menor concentração de surfactante, parte do analito não é extraída da fase aquosa, resultando em menor eficiência do método.

4.3.3. Estudo da concentração do ligante (APDC)

A eficiência da extração em ponto nuvem para analitos metálicos depende muito da natureza do ligante utilizado. O ligante deve formar preferencialmente com o analito de interesse uma espécie neutra, ou seja, com caráter hidrofóbico, o qual apresentará maior afinidade com os agregados micelares formados pelo surfactante quando este atingir a temperatura de ponto nuvem.

Figura 12 – Valores de absorbância em função de diferentes concentrações de Triton X-114, mantendo fixos os parâmetros: 10 µg L⁻¹ de Pt, 3,0x10⁻² mol L⁻¹ de APDC e pH 7.

O íon de Pt encontra-se em solução no estado de oxidação +4, na forma de clorocomplexo, Pt(Cl₆)²⁻. Esse complexo é formado conforme a equação (1):

O ligante APDC, conforme visto na Figura 2, possui em sua estrutura dois grupos tióis, os quais estabelecem ligações com o íon metálico, formando o complexo. A reação proposta para a complexação do íon Pt (IV) com APDC está representada na equação (2):

De modo geral trabalha-se com excesso em relação à concentração do analito de interesse. Concentrações muito baixas do ligante podem comprometer a extração, visto que nem todo analito é complexado. Por outro lado, se for muito elevada poderá comprometer a extração, porque pode haver competição entre o ligante livre com o complexo formado para a extração no interior da micela, e mesmo, haver a competição com outras possíveis espécies interferentes presentes na amostra. Sendo assim, deve-se encontrar a melhor concentração do ligante. O intervalo de concentração de APDC investigado foi de $0,003 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,13 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 13).

Figura 13 – Valores de absorbância em função de diferentes concentrações de APDC, mantendo fixos os parâmetros: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, $0,5\% \text{ m v}^{-1}$ de Triton X-114 e pH 7.

A partir dos valores de absorbância obtidos, verificou-se que a melhor concentração de APDC para a extração de até $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Pt foi de $0,03 \text{ mol L}^{-1}$.

4.3.4. Estudo da temperatura, tempo do banho térmico e tempo de centrifugação

Na sequência dos estudos, foram avaliados os parâmetros físicos (temperatura, tempo do banho e tempo de centrífuga) relacionados à extração por ponto nuvem. A temperatura do banho térmico, necessária para induzir a formação do ponto nuvem do surfactante, foi investigada no intervalo entre 20°C e 80°C (Figura 14). Observou-se que temperaturas acima de 40°C foram suficientes para a indução do ponto nuvem e o melhor sinal analítico de absorbância, obtido no GF AAS, foi à temperatura de 60°C, levando-se em consideração os desvios padrões e uma temperatura mais fácil de trabalhar. Apesar de haver formação do ponto nuvem na temperatura ambiente, observou-se que a temperaturas muito baixas não induziam o estado de ponto nuvem do surfactante. Por outro lado, temperaturas muito altas, apesar de formar o ponto nuvem, podem comprometer a estabilidade das micelas formadas, além de serem menos atraentes para o manuseio, durante o trabalho experimental.

O tempo de banho submetido às soluções também foi investigado no intervalo entre 5 e 30 minutos, mantendo a temperatura de 60°C, como mostrado na Figura 15. Foi observado o maior sinal analítico de absorbância para o tempo de 10 minutos. O menor tempo de contato com o banho pode não ser suficiente para que ocorra a formação dos agregados micelares, o que permitirá a formação do ponto nuvem e extração do complexo do analito.

Figura 14 – Valores de absorbância em função de diferentes temperaturas de banho, mantendo fixos os parâmetros: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, $0,5\% \text{ m v}^{-1}$ de Triton X-114 e pH 7.

Figura 15 – Valores de absorbância em função de diferentes temperaturas de banho, mantendo fixos os parâmetros: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt, $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, $0,5\% \text{ m v}^{-1}$ de Triton X-114 e pH 7.

O tempo de centrifugação foi variado no intervalo de 5 a 40 minutos (Figura 16), porém para tempos abaixo de 10 minutos não houve separação quantitativa da fase rica em surfactante. Para centrifugação com tempos abaixo de 10 minutos, não ocorreu separação quantitativa da fase rica em surfactante. Para tempos de centrifugação superiores a 10 minutos não foram observadas variações nos valores dos sinais analíticos obtidos e deste modo, o tempo de centrifugação foi fixado em 10 minutos.

Figura 16 - Valores de absorbância em função de diferentes tempos de centrifugação, mantendo fixos os parâmetros: $10 \mu g L^{-1}$ de Pt, $3,0 \times 10^{-2} mol L^{-1}$, 0,5% m v^{-1} de Triton X-114 e pH 7.

Após otimização de todos os parâmetros, foi obtido a melhor condição para a aplicação da extração em ponto nuvem: pH=7, $3,0 \times 10^{-2} mol L^{-1}$ de APDC, 0,5% m v^{-1} de Triton X-114, tempo de 10 minutos em banho à 60 °C de temperatura e 10 minutos de centrifugação.

4.4. Programa de aquecimento do GF AAS para a determinação de Pt na ausência de pré-concentração

A Pt é um elemento com altos valores de ponto de fusão (1796 °C) e ebulição (3827 °C) (HAYNES, 2014). Compostos com altos pontos de fusão e ebulição, considerados compostos refratários, são difíceis de sofrerem processo de atomização, havendo assim baixa eficiência na produção de átomos livres no estado fundamental no interior do tubo de grafite para medida de absorbância. Para contornar esse problema, a formação de espécies menos refratárias pode ser um caminho. Espécies de Pt, como exemplo, os cloretos e óxidos, ou mesmo intermetálicos, possuem temperaturas de fusão e ebulição abaixo daquelas observadas para o metal puro. A formação de espécies com menores temperaturas de fusão e ebulição é importante para se alcançar a vaporização do elemento em menores temperaturas e pode resultar em ganho significativo de eficiência de atomização. Essas espécies, em geral, são os precursores atômicos, os quais darão origem ao átomo de Pt no estado fundamental (WELZ; SPERLING, 1999). Geralmente, é na etapa de pirólise que deve ocorrer a formação dos precursores atômicos do elemento. Portanto, a otimização buscando a temperatura ótima é muito importante. Essa etapa é também responsável pela separação do analito e concomitantes presentes na amostra, visando à eliminação de interferências no momento da atomização. Para que se tenha um controle sobre tais espécies formadas no momento da pirólise é recomendada a utilização de modificadores químicos. Em geral, os modificadores são utilizados para garantir que sejam formadas espécies com menores temperaturas de ebulição, espécies menos voláteis do analito, podendo assim atingir temperaturas mais elevadas de pirólise, ou então

converter os concomitantes em espécies mais voláteis, que são eliminadas em menor temperatura. Também podem contribuir na diminuição da temperatura de atomização de elementos mais refratários, quando esses são transformados em outras espécies durante o turno do programa de aquecimento.

Na etapa de atomização busca-se a temperatura em que ocorra a formação mais eficiente da nuvem atômica do elemento. Nesse momento, o feixe de radiação vai interagir com os átomos para ocorrer à medida da absorção atômica.

A Figura 17 ilustra as curvas de pirólise e atomização obtidas na ausência e presença de modificador químico co-injetado de 5 µg de Pd + 3 µg de Mg. O emprego de modificador químico é uma alternativa para superar vários obstáculos durante as determinações por GF AAS. Uma vez que os elementos ocorrem em diversas formas, apresentam propriedades distintas e a temperatura de pirólise poderá depender diretamente das espécies do elemento (WELZ; SPERLING, 1999)..

A Pt, como comentado acima, possui características refratárias, refletindo nas altas temperaturas de pirólise e atomização observadas. Nas condições estabelecidas, é possível observar que os compostos de Pt formados durante a pirólise suportam temperaturas de até 1800 °C, tanto na presença como na ausência de modificador químico. Acima de 1900 °C verifica-se que há queda acentuada nos valores de absorbância, onde espécies do elemento começam a serem perdidas por volatilização. Na ausência de modificador químico, observa-se, durante a curva de pirólise, aumento progressivo do sinal de absorbância, sendo mais acentuado entre 1400°C e 1800°C. Esse aumento no sinal de absorbância pode ser um indicativo da formação de precursor atômico com maior facilidade de atomização. O mesmo comportamento não é observado na presença do modificador 5 µg de Pd + 3 µg de Mg. Ocorre aumento menos pronunciado dos sinais de absorbância, sendo estes

praticamente inalterados entre 1000°C e 1800°C. Apesar de não ter demonstrado efeito em termos de temperatura de pirólise, fica evidente que o modificador químico alterou as vias de atomização. No entanto, na presença do modificador químico ocorreu perda do sinal de absorbância, provavelmente devido a formação de compostos intermetálicos mais difíceis de atomizar.

Após este estudo térmico foi considerado que o uso de modificador químico não provocou mudança significativa no sinal analítico, pelo contrário provocou perda, sendo assim escolhida a temperatura de pirólise de 1500 °C. Apesar de admitir temperaturas maiores, esta foi escolhida porque apresenta o mesmo valor de absorbância observado para temperatura de pirólise de 1800 °C e para prolongar a vida útil do tubo de grafite. Além disso, considerando que durante a separação, por ponto nuvem, vários componentes inorgânicos não serão arrastados com as micelas, a composição final da amostra estará com menor concentração desses eventuais interferentes inorgânicos, não necessitando de tão elevada temperatura de pirólise. Quanto aos estudos do tempo de rampa e patamar, as melhores condições para a pirólise foram respectivamente 100 °C s⁻¹ e 20 s.

A curva de atomização apresentou um crescimento constante nos valores dos sinais de absorbância com aumento da temperatura. Ao atingir 2400 °C foi observado um platô, tanto na ausência como na presença do modificador químico, com pequena queda em 2600 °C. Sendo assim, foi considerada a temperatura ótima de atomização em 2500 °C. A taxa de aquecimento e patamar também foram otimizadas nessa etapa, sendo selecionados 2500 °C.s⁻¹ e 6 s, respectivamente. A taxa de aquecimento indica o quão rápido o tubo de grafite vai atingir a temperatura máxima estabelecida no programa de aquecimento. Com o valor adotado o tubo de

grafite deveria aquecer de 1500 °C (temperatura de pirólise) a 2500 °C em cerca de 100 milissegundos.

Uma das hipóteses levantadas durante esse estudo foi que a Pt poderia formar compostos refratários (e.g. carbetos de platina), durante as etapas de pirólise e/ou atomização, o que poderia comprometer a sensibilidade do método. Sendo assim, foram testados dois modificadores químicos permanentes: 350 µg NbC ou a mistura de 300 µg de W + 250 µg de Ir.

A Figura 17 mostra as curvas de pirólise e atomização obtidas com os modificadores permanentes Nb e W + Ir, comparadas com as curvas na ausência de modificador químico.

Figura 17 – Curvas de pirólise e atomização para 100 µg L⁻¹ de Pt em 0,1% v v⁻¹ de HCl, na ausência e presença de modificador químico (co-injetado 5 µg de Pd + 3 µg de Mg).

A utilização de modificadores químicos permanentes não contribuiu para melhorar os sinais analíticos, também não melhorando as características térmicas, como o aumento a temperatura de pirólise e/ou a diminuição da temperatura de atomização da Pt.

A avaliação das curvas de pirólise e atomização representadas nas Figuras 17 e 18 mostram que o emprego de modificadores químicos não contribuíram, ou mesmo, pioraram os sinais de absorbância. Portanto, para efeitos de método de determinação de Pt, sem pré-concentração do analito, optou-se por realizar otimização dos outros parâmetros, na ausência de modificador químico.

Figura 18 – Curvas de pirólise e atomização comparativa para $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt em $0,1\% \text{ v v}^{-1}$ de HCl, na ausência e presença de modificador químico permanente $350 \mu\text{g NbC}$ e $250 \mu\text{g de W} + 200 \mu\text{g de Ir}$.

4.5. Parâmetros analíticos para a determinação de Pt na ausência de pré-concentração

O programa de aquecimento para o GF AAS após otimização das condições está representado na Tabela 3.

As etapas de secagem 1 e 2 são empregadas para vaporizar a solução aquosa, remanescendo no tubo de grafite apenas a matéria sólida contendo a matriz e o analito. Na etapa de pirólise, como mencionado anteriormente, há a eliminação dos concomitantes da matriz, assim na etapa de atomização haverá a menor quantidade de material interferente. A atomização então é responsável pela vaporização do analito em uma nuvem de átomos livres no estado fundamental, que absorvem a radiação. Por fim a etapa de limpeza, responsável por eliminar quaisquer resquícios de material presente no interior do tubo de grafite.

Tabela 3 – Programa de aquecimento do GF AAS para determinação de Pt.

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa (°C/s)	Patamar (s)	Fluxo de Argônio (L/min)
Secagem 1	110	10	15	1
Secagem 2	130	10	15	1
Pirólise	1500	100	20	1
Autozero	1500	0	6	0
Atomização	2500	2500	6	0
Limpeza	2600	1200	3	1

Tempo total do programa: 89 s; Volume de amostra: 20 µL; Temperatura de injeção da amostra: 30 °C.

A partir deste programa de aquecimento foi executada a calibração do equipamento, obtendo-se a curva analítica, como mostrada na Figura 19, na

ausência de modificador químico. A partir desta curva analítica de calibração foi possível avaliar a sensibilidade e estimar o limite de detecção instrumental.

O limite de detecção instrumental (LOD), em $\mu\text{g L}^{-1}$, foi estimado como sendo três vezes o valor do desvio padrão das medidas do branco dividido pela sensibilidade, ou seja, o coeficiente angular da reta. Deste modo, o valor estimado para o LOD foi $28,7 \mu\text{g L}^{-1}$.

Figura 19 – Curva analítica de calibração para Pt na ausência de modificador químico. Equação da reta: $y=0,000340x - 0,000742$ $R^2= 0,991303$.

A plataforma integrada de grafite (do tipo PIN no equipamento utilizado) foi idealizada de maneira a superar certos desafios relacionados com o gradiente de temperatura formado no interior do tubo de grafite, durante a atomização. Esse gradiente de temperatura favorece processos de recombinação e, conseqüentemente, severas interferências químicas e espectrais. Adicionalmente, a

presença da plataforma no interior do tubo de grafite provoca retardo no tempo de atomização o que pode ser prejudicial para elementos mais refratários, porque propicia a interação com a parede do tubo de grafite. Sendo assim, na tentativa de aumentar os sinais analíticos de absorbância e tentar melhorar a sensibilidade e limite de detecção, obteve-se uma curva analítica na ausência da plataforma, utilizando um tubo sem a plataforma PIN, e ausência de modificador químico. Para a mesma faixa de concentração ($25 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $150 \mu\text{g.L}^{-1}$), porém sem a plataforma, foi observado perda de linearidade, além de queda acentuada nos valores de absorbância, conseqüentemente, de sensibilidade (evidenciado pela diminuição do coeficiente angular), conforme a equação de reta ($y = 8,05 \times 10^{-5} x + 0,0012$; $R^2 = 0,7412$; onde y = absorbância e x = concentração de Pt). A retirada da plataforma, apesar de proporcionar taxas de aquecimento mais rápidas, deixou o ambiente interno do tubo de grafite não isotérmico, prejudicando a eficiência de atomização da Pt. Sendo assim, essa tentativa de melhoria da sensibilidade foi descartada.

Como os valores esperados de Pt no sangue de indivíduos não expostos ou que não estejam em tratamento com quimioterápicos são muito baixos, fica claro que não é possível a determinação na ausência de pré-concentração. Nesse caso, desenvolveu-se o método de pré-concentração com a intenção de melhorar os limites de detecção, alcançando fatores de concentração suficientes para a determinação de Pt em sangue de indivíduos não expostos. Adicionalmente, combinando com o método de pré-concentração, pode ser necessário a utilização de técnicas de detecção mais sensíveis do que a GF AAS, por exemplo, ICP-MS.

4.6. Programa de aquecimento para determinação de Pt após pré-concentração em ponto nuvem

Um novo estudo no programa de aquecimento foi realizado, considerando que a solução resultante da extração em ponto nuvem apresentava, após o processo de separação, composição diferente da solução analítica aquosa. No caso da solução contendo o analito pré-concentrado, tem alto teor de orgânicos, composta pelo ligante, Triton X-114 e o diluente (etanol).

O programa de aquecimento, previamente otimizado, se mostrou ineficiente, rendendo altos valores de sinal de fundo, originados da nuvem de material orgânico no tubo de grafite, qual não foi eliminado na pirólise, permanecendo presente durante a atomização, comprometendo os resultados obtidos. Com isso, adicionou-se mais uma etapa de pirólise ao programa de aquecimento (Tabela 4), com o intuito de se eliminar de maneira mais eficaz o excesso de matéria orgânica durante o programa de aquecimento. Os estudos revelaram que a adição de mais uma etapa de pirólise contribuiu para diminuição dos sinais de fundo resultantes, melhorando os sinais analíticos obtidos.

No programa de aquecimento estudado, a temperatura de Pirólise 1 foi de 400 °C, enquanto a temperatura de Pirólise 2 foi mantida em 1500 °C. A primeira pirólise em 400 °C foi inclusa porque, a essa temperatura e considerando o meio oxidante contendo o HNO_3 , o material orgânico é oxidado, sendo convertido em produtos que podem ser evaporados mais facilmente. A segunda pirólise foi mantida, pois nessa temperatura são eliminados compostos termicamente mais estáveis e eventuais componentes inorgânicos presentes na matriz. A temperatura de atomização permaneceu a mesma, em 2500 °C.

Tabela 4 - Programa de aquecimento do GF AAS para determinação de Pt após o extração em ponto nuvem.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (°C/s)	Patamar (s)	Fluxo de Argônio (L/min)
Secagem 1	110	10	15	1
Secagem 2	130	10	15	1
Pirólise 1	400	20	30	1
Pirólise 2	1500	100	25	1
Autozero	1500	0	6	0
Atomização	2600	2500	6	0
Limpeza	2610	1200	3	1

Tempo total do programa: 135 s; Volume da amostra: 20 µL; Volume de modificador químico: 10 µL, Temperatura de injeção da amostra: 20 °C.

Foram investigados também os tempos de rampa e patamar junto à adição de mais uma etapa de pirólise. Tempos de rampa e patamar mais longos na pirólise se mostraram melhores para a diminuição do sinal de fundo, ou seja, maior quantidade de orgânicos foram eliminados. Os tempos de rampa e patamar foram mantidos na etapa de atomização, visto que as modificações desses parâmetros nas etapas de pirólise 1 e 2 se mostraram suficientes no propósito de melhorar a qualidade dos sinais analíticos.

4.6.1. Influência do cobre usado como modificador químico convencional

Chappuy *et al.* determinaram Pt por extração em ponto em instrumentos hospitalares, sendo as amostras coletadas superficialmente. Tais instrumentos haviam sido contaminados por quimioterápicos a base de compostos de platina.

Para as determinações, utilizaram o GF AAS. O ligante utilizado pelo grupo foi o DDTC. Os autores relataram que a adição de íons Cu (II) ao diluente água e metanol (1:4) + 0,1 mol.L⁻¹ de HNO₃ melhorou significativamente os sinais de absorbância obtidos no GF AAS. Segundo a justificativa dos autores, o cobre apresenta alta constante de formação (K = 13,7) com o ligante empregado no estudo (STARÝ; KRATZER, 1967), assim, este desloca o equilíbrio de formação entre Pt-DDTC, liberando a Pt para sofrer os processos de pirólise e atomização durante o programa de aquecimento. De fato, quando esse procedimento foi reproduzido, observou-se intensa coloração amarelada da solução resultante, indicando possível complexação entre Cu e o ligante DDTC.

Visto que a técnica utilizada no trabalho (GF AAS), a explicação apresentada pelos autores não parece ser a mais correta. Mesmo o Cu sendo preferencialmente complexado pelo ligante em relação a Pt, isso não é um fator determinante para se obter uma melhora na sensibilidade, tendo em vista a técnica utilizada, pois esta apresenta o programa de aquecimento que é responsável, entre outras funções, por eliminar a matriz durante a etapa de pirólise. Sendo assim, na etapa de pirólise todo material orgânico injetado no equipamento é decomposto e evaporado, remanescendo no interior do tubo apenas espécies do analito, as quais espera-se que sejam os precursores atômicos. Mediante aos resultados obtidos por Chappuy *et al.*, como o Cu melhorou os sinais de absorbância de Pt e sabendo que o ligante utilizado (DDTC) apresenta estrutura muito similar ao APDC, com os grupos tióis como sítios de ligação, investigou-se a adição de Cu(II) e sua influência na determinação de Pt, porém sendo utilizado como modificador químico convencional.

Welz *et al.* (1999) relataram que o Cu foi utilizado em alguns trabalhos de modo a eliminar a possível formação de intermetálicos de Pt com elementos

concomitantes na matriz que pudessem apresentar características refratárias, porém, para aplicações em F AAS não se tem informações sobre os mecanismos de atomização de Pt na presença de cobre como modificador químico. Sendo assim, foi feita a avaliação do comportamento térmico da Pt por meio de curvas de pirólise e atomização na ausência e presença de 10 mg L^{-1} de Cu (Figura 20).

Como observado, houve melhoria no ganho de sinal quando a solução de Cu (II) foi utilizada como modificador químico. Porém, o Cu não contribuiu para que houvesse aumento na temperatura de pirólise e/ou diminuição da temperatura de atomização. Como o mecanismo de atomização de Pt na presença de Cu não é muito difundido, supomos que o Cu possa interagir com elementos que formam espécies refratárias com Pt (e.g. óxidos, carbeto) ou mesmo, o Cu possa formar um intermetálico com a Pt, menos refratário que a Pt elementar, facilitando posteriormente sua atomização com maior eficiência.

Figura 20 - Curva de pirólise e atomização para $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt na presença de 10 mg L^{-1} de Cu como modificador químico.

Os estudos foram realizados de maneira a encontrar a melhor concentração de Cu, como modificador químico. Sendo assim, foi investigada a influência das concentrações de Cu (II) (na ausência de Cu, 10 mg L⁻¹, 50 mg L⁻¹ e 100 mg L⁻¹) como modificador químico para a determinação de Pt, conforme mostrado na Figura 21. Pode se observar nesta figura, que a medida que se aumenta a concentração de cobre, se obtém uma melhora no sinal de absorbância para Pt. Considerando o maior sinal de absorbância de Pt e o menor desvio padrão, a concentração de 50 mg L⁻¹ de Cu²⁺ foi adotada como ótima.

Figura 21 – Sinais de absorbância 100 µg L⁻¹ solução padrão de Pt em função da variação da concentração de Cu como modificador químico convencional.

4.7. Parâmetros analíticos para a determinação de Pt após extração em ponto nuvem

A partir das condições otimizadas foram obtidas curvas analíticas na ausência (10 a 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pt em 0,1 mol L^{-1} de HCl; solução do branco preparada nas mesmas condições que os padrões, na ausência do analito), usando o programa de aquecimento descrito na Tabela 3, e na presença (0,5 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pt em 0,1 mol L^{-1} de HCl, 50 mg L^{-1} de Cu; solução do branco preparada nas mesmas condições que os padrões, na ausência do analito), usando o programa de aquecimento descrito na Tabela 4, de extração em ponto nuvem. Na Tabela 5 estão resumidos os parâmetros adotados para a pré-concentração utilizando a extração em ponto nuvem.

Tabela 5 – Parâmetros químicos e físicos otimizados para extração em ponto nuvem

pH	Concentração APDC (mol L^{-1})	Concentração Triton X-114 (m v^{-1})	Temperatura de banho ($^{\circ}\text{C}$)	Tempo de banho (min)	Tempo de centrifugação (min)
7	$3,0 \times 10^{-2}$	0,5%	60	10	10

Na Figura 22 estão mostradas as curvas analíticas obtida na ausência e presença de pré-concentração de Pt.

A partir da razão entre os coeficientes angulares (parâmetro que expressa sensibilidade) das curvas analíticas de calibração ($A = \alpha c + b$) na presença e na ausência da extração em ponto nuvem foi possível verificar fator de enriquecimento de 24 vezes.

O limite de detecção do método proposto foi calculado a partir de 3 vezes o desvio padrão de 10 medidas do branco pelo coeficiente angular da curva analítica. O valor estimado foi de $0,24 \mu\text{g L}^{-1}$. Se comparado ao limite de detecção estimado na ausência de pré-concentração ($28,7 \mu\text{g L}^{-1}$), foi observado um ganho de, aproximadamente, 120 vezes.

A Figura 23 traz os sinais instrumentais obtidos na ausência e na presença de pré-concentração, assim como o branco após a aplicação da extração em ponto nuvem sem a adição de Pt.

O método proposto foi comparado a outros trabalhos encontrados na literatura que empregam extração em ponto nuvem para a determinação de Pt, conforme mostrado na Tabela 6.

A Tabela 6 mostra que o método proposto é comparativo a trabalhos previamente reportados, embora estes tenham sido aplicados para amostras diferentes. O trabalho realizado apresenta limite de detecção e fator de enriquecimento similares, além de ser também um método simples, rápido e de baixo custo.

(a)

(b)

Figura 22 – Curvas analíticas na ausência (Equação da reta: $y = 0,00034x - 0,000742$, $R^2 = 0,991303$) (a) e presença (Equação da reta: $y = 0,008029x + 0,002623$, $R^2 = 0,997214$) (b) de pré-concentração.

(a)

(b)

(c)

Figura 23 - Sinais instrumental de absorvância para Pt: (a) Branco após aplicar o procedimento de extração em ponto nuvem na ausência de Pt; (b) $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt na ausência de pré-concentração; e (c) $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pt na presença de pré-concentração. Curva vermelha = absorvância da Pt; curva azul = sinal de fundo.

Tabela 6 – Características de métodos de extração em ponto nuvem aplicados para a pré-concentração e determinação de Pt em comparação ao método proposto nesse estudo.

Ligante para a extração	Técnica de detecção	Matrizes	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Fator de Enriquecimento	Referência
DDTC	GF AAS	Superfícies contaminadas por quimioterápicos	0,20	29	Chappuy <i>et al.</i>
HCPTS	GF AAS	Águas e alimentos	0,25	47	Mortada <i>et al.</i>
APDC	F AAS	Esgoto industrial	2,80	12	Yuanpei <i>et al.</i>
APDC	GF AAS	Sangue humano total	0,24	24	Presente trabalho

4.8. Digestão assistida por micro-ondas e análises das amostras de sangue total

4.8.1 Avaliando a digestão com diferentes concentrações ácidas

A ideia de se usar a menor concentração ácida possível, mas que garantisse a eficiência de digestão foi investigada, visto que quanto menor a concentração ácida, menor o volume utilizado de solução básica para neutralizar a solução digerida final. Ou seja, menor volume adicionado implica em menor diluição, fator crítico na pré-concentração.

A eficiência das diferentes concentrações foi avaliada de acordo com a quantidade de resíduo sólido presente na solução digerida final. A maneira de avaliar a eficiência da digestão é determinar o conteúdo de carbono residual na

solução final. Algumas técnicas são afetadas drasticamente por esse conteúdo, porém não é caso da técnica utilizada nesse trabalho. O carbono residual, por ser constituído de espécies hidrofílicas, não deve interferir de modo a comprometer o procedimento de extração, tão pouco na determinação por GF AAS.

Dentre as concentrações investigadas, todas produziram soluções límpidas, indicando completa digestão da amostra. Sendo assim, a concentração final de 1,5% v v⁻¹ de HNO₃ foi escolhida por ser suficiente para a completa digestão dos 200 µL de sangue total.

4.8.2. Determinação de Pt e teste de adição e recuperação

Com o intuito de avaliar a aplicabilidade do método proposto, duas amostras de sangue total distintas foram utilizadas nesse estudo, a primeira de um indivíduo portador de prótese femoral e a segunda de um voluntário não exposto ocupacionalmente. As amostras de sangue foram submetidas, após digestão, ao processo de extração em ponto nuvem para a determinação de Pt. Foi constatado que as concentrações de Pt nas amostras eram muito baixas, mesmo com o método apresentando um bom fator de pré-concentração, ainda assim, não foi suficiente para alcançar o limite de detecção do GF AAS. Todas as amostras apresentaram concentrações de Pt menor do que o LOD (0,24 µg L⁻¹).

Esses resultados indicaram que a prótese de aço inoxidável, com a parte da articulação de platina, mesmo tendo sido utilizada durante vários anos como implante, não contribuiu para aumentar o nível de Pt no sangue do indivíduo portador.

No teste de adição e recuperação foram adicionadas concentrações de 1, 5 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pt nas amostras de sangue antes da digestão. Como referência, uma solução contendo os mesmos reagentes e 1, 5 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pt foi digerida, porém na ausência de sangue.

Os valores de recuperação obtidos neste estudo estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Determinação de Pt em amostras de sangue de indivíduo portador de prótese femoral e indivíduo não exposto ocupacionalmente após adição de 1, 5 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pt.

Amostra	Conc. Pt ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc. Pt adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc. Pt encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$) (*)	Rec (%)
I	<LOD	10	9,4 (4%)	94
II	<LOD	1	1,0 (16%)	102
		5	4,1 (0,7%)	82
		10	9,2 (3%)	92

* RSD

Amostra I: sangue total de indivíduo portador de prótese femoral;

Amostra II: sangue total de indivíduo não exposto ocupacionalmente.

Os valores de recuperação para ambas as amostras foram similares, variando de 82 a 102%. Esses valores podem ser considerados como muito bons uma vez que corresponde ao procedimento como um todo, desde a digestão da amostra, passando pela pré-concentração e determinação por GF AAS. É importante frisar

que potenciais interferências de outros elementos presentes no sangue (e.g. Fe, Cu e Zn), que poderiam competir com a formação do complexo e prejudicar a separação e pré-concentração de Pt, também não foram observadas. A concentração de Fe, Zn e Cu por mililitro de sangue, determinada por ICP OES, foram estimadas na ordem de 323,8 µg, 4,3 µg e 0,6 µg.

O método desenvolvido, apesar de apresentar um bom fator de enriquecimento e baixo limite de detecção, não pode ser aplicado em amostras de sangue de indivíduos não expostos ocupacionalmente a Pt.

A alta emissão de Pt pelos veículos automotivos equipados com conversores catalíticos, devido o desgaste natural ao longo do uso, não reflete o aumento da concentração nos seres humanos. Relatos da literatura indicam que as concentrações de Pt, em sangue de indivíduos não expostos ocupacionalmente, estão no intervalo entre 0,8 ng L⁻¹ a 6,9 ng L⁻¹ (BEGEROW, *et al.*, 1997). Porém, os níveis de Pt encontrados em indivíduos expostos ocupacionalmente (e.g. enfermeiros de pacientes com câncer) são na ordem de 2,2 µg L⁻¹ a 4,0 µg L⁻¹ (NYGREN; LUNDGREN, 1997) e pacientes administrados com drogas anticancer a base de Pt (e.g. cisplatina, carboplatina), podem ser encontradas concentrações ainda maiores no sangue e mesmo diretamente nos tumores (BLÖCHL-DAUM, *et al.*, 1996). Nesse sentido, o método proposto demonstra ser inviável para determinações de Pt em sangue de indivíduos não expostos, porém, pode ser recomendado para determinações em sangue de indivíduos expostos e daqueles que estão sendo submetidos a tratamentos com quimioterápicos a base de Pt.

5. CONCLUSÃO

Entre os diferentes ligantes investigados, somente APDC e DDTC mostraram potenciais para a complexação e pré-concentração de Pt por extração em ponto nuvem. No caso do APDC, a complexação ocorre mesmo em concentrações baixas desse ligante (0,05% m v⁻¹), o que não foi verificado no caso do DDTC, cuja eficiência é melhor para concentrações da ordem de 1% m v⁻¹.

Na ausência de pré-concentração o limite de detecção encontrado para a Pt em GF AAS foi muito elevado (28,7 µg L⁻¹), indicando que esta condição não é viável para determinação em sangue de indivíduos não expostos e mesmo em casos de indivíduos submetidos a tratamento quimioterápico à base de compostos de Pt. A otimização do programa de aquecimento nas condições de pré-concentração foi essencial para a obtenção da melhor sensibilidade. O estudo mostrou que o uso de Cu(II) na concentração de 50 mg L⁻¹ contribuiu para melhorar a eficiência de atomização e consequentemente com um ganho de sensibilidade. Utilizando todos os parâmetros otimizados da extração em ponto nuvem (pH=7, 3,0x10⁻² mol L⁻¹ de APDC, 0,5% m v⁻¹ de Triton X-114, temperatura de 60 °C de banho num tempo de 10 minutos e centrifugação de 10 minutos) e do forno de grafite, o fator de enriquecimento, baseado na comparação da sensibilidade na ausência e presença de pré-concentração foi de 24 vezes, e comparando-se os limites de detecção foi de 120 vezes.

O método desenvolvido não foi sensível o suficiente para a determinação de Pt nas amostras de sangue de indivíduos não exposto ocupacionalmente. Os limites encontrados estavam abaixo do limite de detecção do método (0,24 µg L⁻¹). As adições de 10 µg L⁻¹ de Pt antes da digestão das amostras renderam recuperações

entre 87 e 94%, mostrando que o método proposto não apresentou interferências de elementos concomitantes da matriz.

Apesar de não ter atingido os limites que podem ser encontrados no sangue de indivíduos não expostos ocupacionalmente, o método proposto pode ser recomendado para a determinação de Pt em indivíduos expostos ou que estejam passando por tratamento com quimioterápicos a base de Pt (Cisplatina, Carboplatina, Oxaloplatina).

6. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

AKRIVI, A. A.; TSOOGAS, G. Z.; GIOKAS, D. L. Analytical determination and bio-monitoring of platinum group elements in roadside Grass using microwave assisted digestion and eletroctrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytical Letter**, v.45, p. 526 – 538, 2012.

ALEIXO, L. M.; Voltametria: conceitos e técnicas. *Chemkeys*. Disponível em: <<http://usuarios.upf.br/~gobbi/CADA%20UMA%20DAS%20DISCIPLINAS/QUIMICA%20ANALITICA%20INSTRUMENTAL/voltametria-vf.pdf>> Acesso: 05/03/2015.

AL-SAIDI, H. M.; EMARA, A. A. A. The recent developments in dispersive liquid–liquid microextraction for preconcentration and determination of inorganic analytes. **Journal of Saudi Chemical Society**, v.18, p. 745 – 761, 2014.

ALTUNAY, N.; GÜRKAN, R. A new cloud point extraction procedure for determination of inorganic antimony species in beverages and biological samples by flame atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v.175, p. 507 – 515, 2015.

AMORIM, F. A. C.; FABIO, A.; LOBO, I. P.; SANTOS., V. L. C. S. Espectrometria de Absorção Atômica: o caminho para a determinação multi-elementares. **Química Nova**, v.31, nº7, p. 1784 – 1790, 2008.

ANTONOVA, Y. V.; BUKHRYAKOV, V. A.; LYAMINA, O. I. Direct X-ray Fluorescence: Determination of Platinum and Rhodium in Used Ceramic Based Autocatalysts. **Analysis of the Material**, v.79, nº 12, p. 6 – 9, 2014.

ARRUDA-NETO, J. D. T.; OLIVEIRA, M C. C.; SARKIS, J. E. S. Study of environmental burden of lead in children using teeth as bioindicator. **Environment International**, v. 35, p. 614–618, 2009.

BAKIRCIOGLU, D. Cloud point extraction for the preconcentration of palladium and lead in environmental samples and determination by flow injection flame atomic absorption spectrometry. **Environ Sci Pollut Res**, v.19, p. 2428 – 2437, 2012.

BALARAM, V.; VUMMITI, D.; ROY, P. Determination of precious metals in rocks and ores by microwave plasma-atomic emission spectrometry for geochemical prospecting studies. **Current Science**, v.104, nº09, p. 1207 – 1215, 2013.

BARBANTE, C.; VEYSSEYRE, A.; FERRARI, C. Greenland Snow Evidence of Large Scale Atmospheric Contamination for Platinum, Palladium, and Rhodium. **Environ. Sci. Technol**, v.35, p. 835 – 839, 2001.

BATLEY, G. E., MATOUSEK, J. P. Determination of Heavy Metals in Seawater by Atomic Absorption Spectrometry after Electrodeposition on Pyrolytic Graphite-Coated Tubes. **Analytical Chemistry**, v.49, nº13, p. 2031 – 2034, 1977.

BEGEROW, J.; TURFELD, M.; DUNEMANN, L. Determination of Physiological Palladium, Platinum, Iridium and Gold Levels in Human Blood Using Double Focusing Magnetic Sector Field Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 12, p. 1095 – 1098, 1997.

MORTON-BERMEA, O.; MUÑOZ, O.; MARTINEZ-TREJO, L.; HERNANDEZ-ÁLVAREZ, E.; BERAMENDI-OROSCO, L. Platinum in PM 2.5 of the metropolitan area of Mexico City. **Environ Geochem Health**, v.36, p. 987 – 994, 2014.

BEZERRA, M. A.; FERREIRA, S. L. C., Extração em ponto nuvem: princípios e aplicações em química analítica. **Edições UESB**, 2006.

BHASKARAN, S.; CHAPMAN, T. Performance Based CID Imaging – Past, Present and Future. **Thermo Fisher Scientific**.

BLÖCHL-DAUM, B.; MÜLLER, M.; MEISINGER, V.; EICHLER, H. G.; FASSOLT, A.; PEHAMBERGER, H. Measurement of extracellular fluid carboplatin kinetics in melanoma metastases with microdialysis. **British Journal of Cancer**, v. 73, p. 920 – 924, 1996.

BOCCA, B.; ALIMONTI, A.; CRISTAUDO, A.; CRISTALLINI, E.; PETRUCCI, F.; CAROLI, S. Monitoring of the exposure to platinum-group elements for two Italian population groups through urine analysis. **Analytica Chimica Acta**, v.512, p. 19 – 25, 2004.

BOSS, C. B.; FREDEEN, K. J. Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry.. **Perkin Elmer, Inc**, 3^a ed, 2004.

BUKHBINDER, G. L.; KORDA, T. M.; DEMIDOVA, M. G.; GUSKOVA, E. A.; TORGOV, V. G. Determination of Platinum-Group Metals and Gold in the Group Extract by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission spectrometry after the Autoclave Decomposition of Geological Samples. **Journal of Analytical Chemistry**, v.64, p. 593 – 601, 2009.

BUTLER, O. T.; COOK, J. M.; HARRINGTON, C. F.; HILL, S. J.; RIEUWERTS, J.; MILES, D. L. Atomic spectrometry update. Environmental analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectroscopy**, v.21, p. 217 – 243, 2006.

BUTLER, O. T.; CAIRNS, W. R. L.; COOK, J. M.; DAVIDSON, C. M. 2014 atomic spectrometry update – a review of advances in environmental analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectroscopy**, v.30, p. 21 – 63, 2015.

CAMINO-SANCHEZ, F. J., GOMEZ, R. R.; GOMEZ, A. Z., FANDILA, A. S VÍLCHEZ, J. L. Stir bar sorptive extraction: Recent applications, limitations and future trends. **Talanta**, v.130, p. 388 – 399, 2014.

CARASEK, E.; TONGES, J. W.; SCHARF, M. Pré-concentração de chumbo e cádmio em um sistema de micro extração líquido-líquido e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama. **Química Nova**, v.25, p. 748-752, 2002.

CASTILLO, M. L. A.; TORRES, A. G.; ALONSO, E. V.; CORDERO, M. T. S.; PAVÓN, J. M. C. Multi-element determination of Pt, Pd and Ir traces in environmental samples by ICP-MS after pre-concentration. **Talanta**, v.99, p. 853 – 858, 2012.

CHAKRAPANI, G.; MAHANTA, P. L.; MURTY, D. S. R; GOMATHY, B. Preconcentration of traces of gold, silver and palladium on activated carbon and its determination in geological samples by flame AAS after wet ashing. **Talanta**, v.53, p. 1139 – 1147, 2001.

CHAPPUY, M.; CAUDRON, E.; BELLANGER, A.; PRADEAU, D. Determination of platinum traces contamination by graphite furnace atomic absorption spectrometry after preconcentration by cloud point extraction. **Journal of Hazardous Materials**, v.176, p. 207–212, 2010.

CHWASTOWSKA, J.; SKWARA, W.; STERLINSKA, E.; PSZONICKI, L. Determination of platinum and palladium in environmental samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after separation on dithizone sorbent. **Talanta**, v.64, p. 224 – 229, 2004.

COBELO-GARCÍA, A.; ECHEANDIA, J. S.; SANCHÉZ, D. E. L.; ALMECIJÁ, C.; OMANOVIC, D. Improving the Voltammetric Quantification of Ill-Defined Peaks Using Second Derivative Signal Transformation: Example of the Determination of Platinum in Water and Sediments. **Analytical Chemistry**, v.86 p. 2308 – 2313, 2014.

CORNELIS, R.; HEINZOW, B.; HERBER, R. F. M.; CHRISTENSEN, J.M.; PAULSEN, O. M., SABBIONI, E.; TEMPLETON, D. M.; THOMASSEN, Y.; VAHTER, M.; VESTERBERG, O. Sample collection guidelines for trace elements in blood and urine. **Pure Applied Chemistry**, v. 67, p. 1575 - 1608, 1995.

CORNELIS, R.; CREWS, H. M.; CARUSO, J. A. HEUMANN, K. G. Introduction. In: CORNELIS, R, et al. Handbook of Elemental Speciation: Techniques and Methodology. Chichester. John Wiley & Sons, 2003.

Departamento Estadual de Trânsito de São Paulo - DETRAN SP, Estatísticas de Trânsito. Disponível em:

<http://www.detran.sp.gov.br/wps/portal/portaldetran/detran/estatisticastransito/sa-frotaveiculos/d28760f7-8f21-429f-b039-0547c8c46ed1/!ut/p/b1/vZLfbolwFMafxQeYPS2IHC6rA5RIZQWccGPcMEQUXTlyJ08_1LhkWxw3y3qumvzO951_JCOpiYILZjNO5iTbLd_WxbJe73fL7emfiYXBIBIHVAJqhSCnXugjlgfBZIT4B5BZg8AY7Qj_sVAQ9aV_0jS8VXkk3JmLkiUhkudKQMUXSI-ydZPVf_wXPWhT23KuaAChUUZALYW2TeBn_oX4JcuzgDceBJl2gLWzRoDk8RkDnwRlceXcbNpdAmH99dSGgEUDbVm46CZJCr2jrFSKiiHjN4nBxW7Yb0pWJDUKsjjMJ_pZCAHesjsvMvQ-mdDh_-54ZetcoEWGtQUBm0H3t6NT9RoX61IIW0nx7tlj5r5OVay1_sAE3vzMg!!/dl4/d5/L2dBISEvZ0FBIS9nQS_Eh/> Acesso em: 20/04/2014.

ELGHALBAN, M. G.; DEFARWY, A. M. E.; SHAH, R. K.; MORSI, M. A. α -Furil Dioxime: DFT Exploration and its Experimental Application to the Determination of Palladium by Square Wave Voltammetry. **Int J Electrochem Sci**, v.9, p. 2379 – 2396, 2014.

ELLER, R.; ALT, F.; TOLG, G. An eficiente combined procedure for the extreme trace analysis of gold, platinum, palladium and rhodium with the aid of graphite furnace atomic absorption spectrometry and total reflection X-ray fluorescence analysis. **Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie**, v.8, p. 723-739, 1989.

EYBE T.; AUDINOT, J. N.; UDELHOVEN, T.; LENTZEN, E.; EL ADIB, B.; ZIEBEL, J.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Determination of oral uptake and biodistribution of platinum and chromium by the garden snail (*Helix aspersa*) employing nano-secondary ion mass-spectrometry. **Chemospher**, v.90, p. 1829 – 1838, 2013.

FERREIRA, P. C., LIU, A. S., A Importância do Uso de Conversores Catalíticos em Automóveis para o Meio Ambiente. In: **X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação**, Universidade do Vale do Paraíba, São Paulo, 2006.

FERRETTI, M., Princípios e aplicações de espectroscopia de fluorescência de Raios X (FRX) com instrumentação portátil para estudo de bens culturais. **Revista CPC**, v.7, p. 74 – 98, 2009.

FERRETTI, M., The investigation of ancient metal artefacts by portable X-ray fluorescence devices. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.29 p. 1753 – 1766, 2014.

FONTÀS, C.; MARGUI, E.; HIDALGO, M.; QUERALT, I. Improvement approaches for the determination of Cr(VI), Cd(II), Pd(II) and Pt(IV) contained in aqueous samples by conventional XRF instrumentation. **X-Ray Spectrometry**, v.38, p. 9 – 17, 2009.

GIUSSANI, B.; RONCORONI, S.; NEMENYI, A.; DAL SANTO, V.; MONTICELLI, D.; RECCHIA, S. Anodic Stripping Tin Titration: A Method for the Voltammetric Determination of Platinum at Trace Levels. **Analytical Chemistry**, v.86, p. 6654 – 6659, 2014.

GOI, R. D. Pré-concentração de Cobalto utilizando resina de Amberlyst A-26 modificada com Morfolinaditiocarbamato de amônio e Determinação por Espectrometria de Absorção Atômica. *Dissertação de mestrado*. UNICAMP, 1998.

GONÇALVES, A. Determination of Pd, Pt and Rh in vehicles escape fumes by GF-AAS and ICP-OES. **Talanta**, v.75, p. 523 – 527, 2008.

GONZÁLEZ, J. A. O.; DOMINGUEZ, J. R.; ALVARADO, J. New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review. **Analytica Chimica Acta**, v.858, p. 1 – 15, 2015.

GUPTA, J. G. S., Determination of trace and ultra-trace amounts of noble metals in geological and related materials by graphite furnace atomic absorption spectrometry after separation by ion exchange or co-precipitation with Tellurium. **Talanta**, v. 36, ed. 6, p. 651 – 656, 1989.

HAYNES, W. M. Handbook of Chemistry and Physics. 95th ed. 2014-2015.

HILL, S. J., Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its applications. 2ª ed. Blackwell Publishing. 2007.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE), CENSO 2010. Disponível em: <<http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=35&dados=0>>. Acesso em: 20/04/2014.

JEAN-SORO, L.; HAMDOS, A. O.; BÉCHET, B.; LEGRET, M. Evaluation of platinum distribution between different soil components. **J Soils Sediments**, v.13, p. 569 – 574, 2013.

JUNIOR, A.C.C. Determination of platinum originated from antitumoral drugs in human urine by atomic absorption spectrometric methods. **Talanta**, v.82, p. 1647 – 1653, 2010.

KOWALSKA, J.; KINSKA, K.; PALDYNA, J.; CZYZEWSKA, M.; BODER, K.; OSTREGA, B. K. Determination of traces of Pt and Rh in soil and quartz samples

contaminated by automobile exhaust after an ion-exchange matrix separation. **Talanta**, v.127, p. 250 – 254, 2014.

KRYLOV, V. A.; KRYLOV, A. V.; MOSYAGIN, P. V.; MATKIVSKAYA, Y. O. Liquid–Phase Microextraction Preconcentration of Impurities. **Journal of Analytical Chemistry**, v.66, nº4, p. 331 – 340, 2011.

LEITE, A. J. B., Emprego de modificadores químicos permanentes para a determinação de cádmio e chumbo em amostras de água. **UFRS**, 2010.

LIAN, Y.; ZHEN, W.; TAI, Z.; YANG, Y.; SONG J.; LI, Z. Cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometry analysis of palladium, platinum and gold ions from industrial polluted soil. **Rare Metals**, v.31, p. 512-516, 2012.

LIMA, E.; KRUG, F. J.; JACKSON, K. W. Evaluation of tungsten-rhodium coating on an integrated platform as a permanent chemical modifier for cadmium, lead, and selenium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **SpectrochimicaActaParta B – Atomic Spectroscopy**, 1998.

MANNING, T. J., GROW, W. R. Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry. **The Chemical Educator**, v.2, p. 1-19, 1997.

MANZOORI, J.; NEZHAD, K. G., Development of a cloud point extraction and preconcentration method for Cd and Ni prior to flame atomic absorption spectrometric determination. **Analytica Chimica Acta**, v.521, p. 173–177, 2004.

MARTINCIC, A.; CEMAZAR, M.; SERSA, G.; KOVAC, V.; MILACIC, R.; SCANCAR, J. A novel method for speciation of Pt in human serum incubated with cisplatin, oxaliplatin and carboplatin by conjoint liquid chromatography on monolithic disks with UV and ICP-MS detection. **Talanta**, v.116, p. 141–148, 2013.

MESSERSCHMIDT, J. Adsorptive voltammetric procedure for the determination of platinum baseline levels in human body fluids. **Fresenius J Anal Chem**, v 343, p.391-394, 1992.

MOGHADDAM, H. A selective flotation – spectrophotometric method for the determination of nickel using dimethylglyoxime. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.22, n 6, p. 1056–1060, 2011.

MORADI, M., YAMANI, Y. Surfactant roles in modern sample preparation techniques: a review. **Journal of Separation Science**, v.35, p. 2319-2340, 2012.

NISCHKAUER, W.; HERINCS, E.; PUSCHENREITER, M.; WELZEN, W.; LIMBECK, A.; Determination of Pt, Pd and Rh in Brassica Napus using solid sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta part B**, v. 89, p. 60 – 65, 2013.

NYGREN, O.; LUNDGREN, C. Determination of platinum in workroom air and in blood and urine from nursing staff attending patients receiving cisplatin chemotherapy. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 70, p. 209 – 214, 1997.

OJEDA, C. B.; ROJAS, F. S., Separation and preconcentration by cloud point extraction procedures for determination of ions: recent trends and applications. **Microchimica Acta**, v.177, p. 1 – 21, 2012.

OLIVEIRA, A. P.; FRESCHI, G. P. G.; DAKUZAKU, C. S.; MORAES, M.; CRESPI, M. S.; NETO, J. A. G. Deposição eletrolítica catódica e anódica simultâneas para minimizar interferências de Cobre e Chumbo na determinação espectrofotométrica de Cádmio em água e alimentos via reação com Verde de Malaquita e Iodeto. **Química Nova**, v. 24, nº6, p. 743 – 747, 2001.

ÖZDEMİR, C.; SAÇMACI S.; KARTAL, S.; SAÇMACI, M. Determination of gold and palladium in environmental samples by FAAS after dispersive liquid–liquid

microextraction pretreatment. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v.20, p. 4059 – 4065, 2014.

PETROV, A. M.; KLIMOVA, O. I.; DAL'NOVA, O. A.; KARPOV, Y, A. Determination of Gold and Platinum Metals in Second Hand and Technogenic Materials with the Use of the Sorption Atomic Emission Method with a Multichannel Emission Spectra Analyzer. **Analysis of the Material**, v.50, n^o 14, p. 1387 – 1391, 2014.

PRAVEEN, R. S.; DANIEL, S.; RAO, T. P. Online Flow Injection Preconcentration and Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Palladium(II) Using Inorganic and Inorganic-Organic Hybrid Materials–Packed Microcolumns. **Analytical Letters**, v.39, p. 1187 – 1199, 2006.

PRÖFROCK, D.; PRANGE, A., Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry (ICP-MS) for Quantitative Analysis in Environmental and Life Sciences: A Review of Challenges, Solutions, and Trends. **Applied Spectroscopy**, v.66, n^o 8, p. 843 – 868, 2012.

PULS, C.; LIMBECK, A.; HANN, S., Bioaccessibility of palladium and platinum in urban aerosol particulates. **Atmospheric Environment**, v.55, p. 213 – 219, 2012.

PYTLAKOWSKA, K.; KOZIK, V.; DABIOCH, M. Complex-forming organic ligands in cloud-point extraction of metal ions: A review. **Talanta**, v.110, p. 202 – 228, 2013.

REDDY, T., MEERAVALI, N. N., REDDY, A. V. R., Phase transfer catalyst assisted directly suspended droplet microextraction of platinum from geological and spent automobile converter samples prior to HR-CS AAS determination. **Analytical Methods**, v. 5, p. 2343-2351 2013.

ROJAS, F. S.; SANCHEZ, F.; OJEDA, C. B.; PAVÓN, J. M. C. Determination of Rhodium and Platinum by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry after

Preconcentration with a Chelating Resin. **J Braz Chem Soc**, v.18, nº 06, p. 1270 – 1275, 2007.

ROTKO, K. T.; ROTKO, M., Voltammetric determination of platinum at a lead film electrode in environmental water samples. **Environ Monit Assess**, v.186, p. 7801 – 7806, 2014.

SAMADDAR, P.; SEN, K., Cloud point extraction: A sustainable method of elemental preconcentration and speciation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v.20, p. 1209 – 1219, 2014.

SHAH, F.; KAZI, T. G.; ULLAH, N.; AFRIDI, H. I. Determination of Lead in Biological Samples of Children with Different Physiological Consequences Using Cloud Point Extraction Method. **Biol Trace Elem Res**, v.153, p. 134 – 140, 2013.

SILVA, S. G.; OLIVEIRA, P. V.; NÓBREGA, J. A.; ROCHA, F. R. P., Cloud point extraction to avoid interferences by structured background on nickel determination in plant materials by FAAS. **Analytical Methods**, v.1, p. 68 – 70, 2009.

SOUSA, V. Desenvolvimento de método para a determinação de Irídio, Paládio, Platina e Ródio por ICPOES em sílica mesoporosa para uso catalítico. Instituto de Química, **Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2012.

SOUZA, A. Simultaneous determination of chromium and manganese in alumina by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using NbC and NaF as modifiers. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.25, p. 675 – 680, 2010 .

SPEZIA, S.; BOCCA, B.; FORTE, G.; GATTI, A; MINCINE, G.; RONCHI, A.; BAVAZZANO, P.; ALIMONTI, A.; MONOIA, C. Comparison of inductively coupled plasma mass spectrometry techniques in the determination of platinum in urine: quadrupole vs. sector Field. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.19, p. 1551 – 1556, 2005.

STARÝ, J., KRATZER, K., Determination of extraction constants of metal diethyldithiocarbamates. **Analytica Chimica Acta**, v.40, p. 93 – 100, 1967.

SUBRAMANIAN, K. S.; Determination of metals in biofluids and tissues: Sample preparation methods for atomic spectroscopic techniques, **Spectrochimica Acta** **51 B**, p. 291-319. 1996.

SUZUKI, A.; OBATA, H.; OKUBO, A.; GAMO, T. Precise determination of dissolved platinum in seawater of the Japan Sea, Sea of Okhotsk and western North Pacific Ocean. **Marine Chemistry**, v.166, p. 114 – 121, 2014.

SZULTKA, M.; POMASTOWSKI, P.; PLUGARU, V. R.; BUSZEWSKI, B. Microextraction sample preparation techniques in biomedical analysis. **Journal of Separation Science**, v. 37, p. 3094 – 3105, 2014.

TAKAHASHI, A.; IGARASHI, S.; UEKI, Y.; YAMAGUSHI, H. X-ray fluorescence analysis of trace metal ions following a preconcentration of metal-diethyldithiocarbamate complexes by homogeneous liquid-liquid extraction. **Fresenius J Anal Chem**, v. 368, p. 607 – 610, 2000.

TAYLOR, S. E.; WOOD, J. P.; THOMAS, A. L.; JONES, G. D. D.; REID, H. J.; SHARP, B. L. A feasibility study of the use of saliva as an alternative to leukocytes as a source of DNA for the study of Pt-DNA adducts in cancer patients receiving platinum-based chemotherapy. **Anal Bioanal Chem**, v.406, p. 8033 – 8036, 2012.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F., Microextração por Fase Sólida. **Química Nova**, v.23, nº4, p. 523 – 530, 2000.

WELZ, B.; SPERLING, M. Atomic Absorption Spectrometry. 2^a ed. Weinheim: WILEY-VCH, 1999.

WEN, X.; WU, P.; CHEN, L.; HOU, X. Determination of cadmium in rice and water by tungsten coil electrothermal vaporization-atomic fluorescence spectrometry and

tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. **Analytica Chimica Acta**, v.650, p. 33–38, 2009.

WISEMAN, C. L. S.; ZEREINI, F. Airborne particulate matter, platinum group elements and human health: A review of recent evidence. **Science of the Total Environment**, v.407, p. 2493 – 2500, 2009.

XING, W.; CHEN, L.; ZHANG, F. Separation of camptothecin from *Camptotheca acuminata* samples using cloud point extraction. **Analytical Methods**, v.6, p. 3644 – 3650, 2014.

YAN, Y.; CHEN, X.; HU, S.; BAI, X. Applications of liquid-phase microextraction techniques in natural product analysis: A review. **Journal of Chromatography A**, v.1368, p. 1 – 17, 2014.

YE, J. Preparation and characterization of magnetic nanoparticles for the on-line determination of gold, palladium, and platinum in mine samples based on flow injection micro-column preconcentration coupled with graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v.118, p. 231 – 237, 2014.

ZAITSEV, V. N.; ZUI, M. F., Preconcentration by Solid Phase Microextraction. **Journal of Analytical Chemistry**, v.69, n°8, p. 715 – 727, 2014.

ZEREINI, F.; WISEMAN, C. L. S.; PÜTTMANN, W.; REIMER, E.; SCHLEYER, R.; BIEBER, E.; WALLASCH, M. Platinum group elements (Pt, Pd, Rh) in airborne particulate matter in rural vs. Urban areas of Germany: Concentrations and spatial patterns of distribution. **Science of the Total Environment**, v.416, p. 261 – 268, 2012.

ZHANG, N.; MA, Y.; SHEN, Y.; GAO, X. Determination of Platinum, Palladium, Ruthenium, Rhodium, and Iridium in Ultrabasic Rock from the Great Dyke of

Zimbabwe by Inductively Coupled Plasma–Optical Emission Spectrometry. **Analytical Letters**, v.47, p. 2072 – 2079, 2014.

ZHAO, P.; LI, J.; ZHONG, L.; SUN, S.; XU, J. A method for determination of PGE–Re concentrations and Os isotopic compositions in environmental materials. **Analytical Methods**, v.6 p. 5537 – 5545, 2014.

ZIMMERMANN, S., VON BOHLEN, A., MESSERSCHMIDT, J., SURES, B., Accumulation of the precious metals platinum, palladium and rhodium from automobile catalytic converters in *Paratenuisentisambiguus* as compared with its fish host, *Anguilla Anguilla*, **Journal of Helminthology**, v.79, p. 85-89, 2005.

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Leandro Mota Santos

Local e data de nascimento: São Paulo, 24 de Maio de 1989.

EDUCAÇÃO

- Escola Estadual Senador Atílio Fontana, São Paulo, 1996-1998.
- Escola Estadual Doutor Honório Monteiro, São Paulo, 1999-2000.
- Escola Municipal Professor Linneu Prestes, São Paulo, 2000 – 2002.
- Escola Estadual Professor Porcino Rodrigues, São Paulo, 2002 – 2004.
- Escola Estadual Dom Duarte Leopoldo e Silva, São Paulo, 2004 – 2006.
- Universidade de Bandeirantes de São Paulo, São Paulo, 2007-2009, Química – Licenciatura.
- Faculdades Oswaldo Cruz, São Paulo, 2011-2012, Lato Sensu em Química – Especialização.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

- I Workshop sobre laser em Química Analítica, Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, Brasil, 2014.

- Participação no “Seminário sobre Preparo de Amostras”, carga horária de 8 horas, São Paulo, Brasil, 2015 (Seminário).

OCUPAÇÃO

- Professor de ensino básico, Governo do Estado de São Paulo, de 02/2009 à presente.