

EXPERIMENTO UTILIZANDO GRÃOS PARA EXPLORAR A CALIBRAÇÃO EM ANÁLISES QUÍMICAS[#]Daniel Menezes Silvestre^a, Juliana Naozuka^b, Paulo Rogério Miranda Correia^c e Cassiana Seimi Nomura^{a,*}^aInstituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, Brasil^bUniversidade Federal de São Paulo, 09972-270 Diadema – SP, Brasil^cEscola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, 03828-000 São Paulo – SP, Brasil

Recebido em 30/01/2014; aceito em 27/05/2014; publicado na web em 22/07/2014

EXPERIMENT USING GRAINS TO EXPLORE CALIBRATION IN CHEMICAL ANALYSES. The conventional curriculum of Analytical Chemistry undergraduate courses emphasizes the introduction of techniques, methods and procedures used for instrumental analysis. All these concepts must be integrated into a sound conceptual framework to allow students to make appropriate decisions. Method calibration is one of the most critical parameters that has to be grasped since most analytical techniques depend on it for quantitative analysis. The conceptual understanding of calibration is not trivial for undergraduate students. External calibration is widely discussed during instrumental analysis courses. However, the understanding of the limitations of external calibration to correct some systematic errors is not directly derived from laboratory examples. The conceptual understanding of other calibration methods (standard addition, matrix matching, and internal standard) is imperative. The aim of this work is to present a simple experiment using grains (beans, corn and chickpeas) to explore different types of calibration methods.

Keywords: calibration; instrumental analysis; internal standard; standard addition.

INTRODUÇÃO

O crescente desenvolvimento da instrumentação analítica tem possibilitado a prática de análises cada vez mais desafiadoras como a medição de concentrações de analitos, em nível de traço e ultra-traço, além da prática das chamadas micro, ultramicro e submicroanálise que envolvem a obtenção de resultados analíticos a partir de massas de amostras inferiores a 10 mg, 1 mg e da ordem de ng, respectivamente.^{1,2} As disciplinas de Química Analítica Instrumental frequentemente abordam o impacto do avanço tecnológico sobre o desenvolvimento de equipamentos cada vez mais sofisticados, os fundamentos e as aplicações das técnicas instrumentais, que podem ser divididas em espectroscópicas, eletroquímicas e de separação. Recentemente, a inclusão de discussões sobre amostragem e preparo de amostras, que são importantes etapas da análise química, também passaram a ser exploradas com maior profundidade.³⁻⁵ Para a grande maioria das técnicas, a quantificação de um determinado analito deve ser feita após a calibração do método. Compreender o conceito de calibração não é trivial para quem não tem experiência com análises instrumentais e esse é o caso da maioria dos alunos de graduação, que até então haviam tido contato com métodos direto de análise como a titrimetria e volumetria. A calibração externa é, sem dúvida, a técnica de calibração mais discutida e utilizada nas análises químicas instrumentais. Nesse caso, soluções analíticas de concentrações diferentes e crescentes são previamente preparadas e analisadas. Por outro lado, os erros sistemáticos que podem ocorrer pelo uso inadequado dessa calibração exigem uma discussão conceitualmente mais sofisticada, que não é facilmente assimilada pelos alunos.

O uso de calibração com adição de padrão, calibração com compatibilização de matriz e/ou calibração com padrão interno são algumas alternativas para os casos que não são resolvidos com calibração externa. A calibração com adição de padrão e a calibração com compatibilização de matriz são comumente utilizadas quando

há interferência causada pela matriz e/ou interferência física (e.g., amostragem e introdução de amostra)⁶. A utilização de calibração com padrão interno é essencial para corrigir os efeitos interferentes em vários procedimentos de análise instrumental, melhorando a qualidade resultados analíticos (precisão e exatidão), corrigindo erros de amostragem e erros associados às interferências físico-químicas que podem ser causadas pela matriz.^{1,2,6} Os alunos apresentam dificuldades com dois obstáculos conceituais de aprendizagem: (1) a compreensão das interferências de matriz, em especial as interferências físicas e seu impacto no resultado analítico, e (2) a diferenciação entre os diferentes tipos de calibração que podem ser empregados ao realizar uma análise química instrumental.

O objetivo do presente artigo é apresentar uma proposta de aula prática para explorar o conceito de calibração no âmbito da análise química instrumental. A comparação entre a calibração externa, calibração com adição de padrão e calibração com padrão interno será feita usando grãos para representar as partículas das substâncias envolvidas. As discussões conceituais situam com mais clareza os termos que fazem parte do cotidiano do químico analítico, tais como a precisão, exatidão, desvio padrão, coeficiente de variação, valores de referência e testes estatísticos. O experimento é simples, tem baixo custo e não envolve instrumentação complexa. Bastam grãos de tamanhos diversos tais como feijão, milho e grão de bico para a sua execução.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais

Para a execução dos experimentos foram necessários aproximadamente 2 kg dos seguintes grãos: feijão comum, feijão preto, feijão branco, milho e grão de bico, que representam respectivamente, o solvente (água), o analito, o padrão interno (PI), solvente de baixa tensão superficial e/ou viscosidade e solvente de alta tensão superficial e/ou viscosidade. Vasilhas e sacos plásticos de tamanhos diversos foram utilizados para acondicionar os grãos. Um béquer e um tubo plástico de 50 mL foram utilizados para realizar as amostragens.

*e-mail: csnomura@iq.usp.br

[#]Esse trabalho foi apresentado em parte na Euroanalysis XVII – The European Conference on Analytical Chemistry, Varsóvia, Polônia, 25-29/08/2013.

Procedimento

Preparo dos padrões para calibração externa, calibração com adição de padrão e calibração com padrão interno

Os padrões de calibração foram preparados misturando-se grãos. A concentração deles é expressa em unidade de analito por unidade de partícula da amostra (u^{-1}). O analito é representado pelo feijão preto, o padrão interno pelo feijão branco e o solvente pelo feijão comum (água), milho (solvente de baixa tensão superficial e/ou viscosidade) e grão de bico (solvente de alta tensão superficial e/ou viscosidade). O uso de diferentes solventes (grãos de diferentes tamanhos) é explorado para simular o que ocorre durante o processo de introdução da amostra, por exemplo, no processo de nebulização, que é empregada em diversas técnicas instrumentais. Sabe-se que solvente de menor tensão superficial e/ou viscosidade, quando comparada à água, facilita a introdução da amostra, uma vez que a taxa de aspiração é aumentada e a formação de gotículas menores é mais eficiente. A situação oposta ocorre para o solvente de maior tensão superficial e/ou viscosidade.⁷

Padrões contendo 0,0 (branco), 0,1, 0,2 e 0,4 u^{-1} foram preparados empregando as quantidades dos grãos apresentadas na Tabela 1. O mesmo procedimento foi adotado para preparar os padrões com adição de padrão, alterando-se o tipo de grão que representa o solvente: ao invés do feijão comum, utilizou-se o milho ou grão de bico. Os padrões para calibração com padrão interno (0,0, 0,1, 0,2 e 0,4 u^{-1}) foram preparados em meio de feijão comum e 0,2 u^{-1} de feijão branco (PI). Nesse caso, 200 grãos de feijão branco foram adicionados (Tabela 1). Em todos os procedimentos, os diferentes grãos foram contados, misturados manualmente e armazenados em sacos plásticos.

Tabela 1. Quantidade de feijão comum (solvente), feijão preto (analito) e feijão branco (padrão interno) usada para preparar padrões de concentração 0,1; 0,2 e 0,4 u^{-1} para a construção de curvas analíticas de calibração externa e calibração com padrão interno

Padrões para calibração externa				
Concentração (u^{-1})	Quantidade (unidade)			
	Feijão comum* (solvente)	Feijão preto (analito)	Feijão branco (PI)	
Branco	0	1000	0	0
Padrão 1	0,1	900	100	0
Padrão 2	0,2	800	200	0
Padrão 3	0,4	600	400	0
Padrões para calibração com padrão interno				
Concentração (u^{-1})	Quantidade (unidade)			
	Feijão comum (solvente)	Feijão preto (analito)	Feijão branco (PI)	
Branco	0	800	0	200
Padrão 1	0,1	700	100	200
Padrão 2	0,2	600	200	200
Padrão 3	0,4	400	400	200

*Para a construção de padrões para a calibração com adição de padrão o feijão comum deve ser substituído pelo milho ou grão de bico.

Preparo das amostras

Amostras contendo concentrações de 0,25 u^{-1} de analito foram preparadas em diferentes meios (solventes), representados pelo

feijão comum, milho e grão de bico (Tabela 2). A adição de padrão interno foi simulada com a inclusão de 200 grãos de feijão branco, resultando em 0,2 u^{-1} de PI (Tabela 2). Os diferentes grãos foram contados, misturados manualmente e armazenados em sacos plásticos em todos os casos.

Tabela 2. Quantidade de grãos utilizada para preparar amostras de referência de concentração 0,25 u^{-1} de analito (feijão preto) sem e com padrão interno (feijão branco) em diferentes solventes: água representada pelo feijão comum, solvente de baixa tensão superficial e/ou viscosidade representada pelo milho e em solvente de alta tensão superficial e/ou viscosidade representado pelo grão de bico

Matriz (solvente)	Concentração (u^{-1})	Quantidade (unidade)		
		Feijão comum (matriz)	Feijão preto (analito)	Feijão branco (PI)
Milho	0,25	750	250	0
	0,25	550	250	200
Grão de bico	0,25	750	250	0
	0,25	550	250	200
Feijão comum	0,25	750	250	0
	0,25	550	250	200

Análise de amostras contra calibração externa

Construiu-se curva de calibração externa utilizando os padrões apresentados na Tabela 1. Um volume de 50 mL de cada padrão foi amostrado em duplicata usando um béquer e a quantidade de analito (feijão preto) foi obtida por meio da contagem manual da quantidade desse grão. Construiu-se um gráfico de da quantidade de grãos de analito (eixo y) por concentração (eixo x).

As amostras preparadas em meio a feijão comum, milho e grão de bico (Tabela 2) foram analisadas em duplicata ($v = 50$ mL). A quantidade de analito (feijão preto) foi contada manualmente. A concentração final foi obtida substituindo-se a quantidade de analito no eixo y da equação de reta da curva de calibração externa.

Análise de amostras contra calibração com adição de padrão

Construiu-se curva de calibração com adição de padrão preparadas em meio a milho e grão de bico conforme procedimento da Tabela 1. Um volume de 50 mL de cada padrão foi amostrado em duplicata e a quantidade de analito (feijão preto) foi obtida por meio da contagem manual desse grão. Construiu-se um gráfico de quantidade de partículas de analito (eixo y) por concentração (eixo x). Contra esse gráfico, as amostras preparadas em meio a milho e grão de bico (Tabela 2) foram analisadas em duplicata ($v = 50$ mL). A quantidade de analito (feijão preto) foi contada manualmente. A concentração final foi obtida substituindo-se a quantidade de partículas de analito no eixo y da equação de reta da curva de calibração com adição de padrão.

Análise de amostras contra calibração com padrão interno

A curva de calibração com padrão interno foi construída utilizando os padrões apresentados na Tabela 1. Um volume de 50 mL de cada padrão foi amostrado em duplicata e a quantidade de analito (feijão preto) e PI (feijão branco) foram obtidas por meio da contagem manual da quantidade desses grãos. Construiu-se um gráfico da quantidade de analito/quantidade de PI (eixo y) por concentração (eixo x).

As amostras preparadas em meio de feijão comum, milho e grão de bico e com adição de PI (feijão branco) foram analisadas em duplicata ($v = 50$ mL). A quantidade de analito (feijão preto) e PI

(feijão branco) foram contadas manualmente. A concentração final foi obtida substituindo-se a razão entre da quantidade de analito/quantidade de PI no eixo y da equação de reta da curva de calibração com adição de padrão.

Uso de padrão interno para corrigir erros na amostragem

O ensaio visando ao uso do PI para melhorar a precisão das medidas foi feita por meio da análise de 10 replicatas da amostra de feijão comum sem e com PI (Tabela 2). Utilizando um béquer de 50 mL contendo marcações de 10 mL, volumes de amostra entre 30 e 50 mL foram tomados para análise. Nesse experimento, a variação de volume amostrado foi feita para simular um possível erro de amostragem durante uma análise química, afetando principalmente a precisão das medidas. No experimento sem padrão interno, apenas quantidade de grãos de feijão preto foram contados (analito) em cada replicata e o desvio padrão dessas medidas foi calculado. No experimento com padrão interno, a quantidade de feijão preto (analito) e feijão branco (PI) foram contados e desvio padrão das razões entre a quantidade de feijão preto (analito) e feijão branco (PI) foi calculado.

RESULTADOS

Erros experimentais em química analítica podem ser classificados em indeterminados ou aleatórios, determinados ou sistemáticos e grosseiros. Os erros indeterminados ou aleatórios são decorrentes de flutuações dos procedimentos de uma análise. Eles podem ser avaliados pelo valor do desvio padrão de um conjunto de medidas, indicando o quanto a precisão dos resultados analíticos é afetada. Os erros determinados ou sistemáticos ocorrem pelas alterações operacionais bem definidas no processo analítico e afetam a exatidão do método. Por fim, os erros grosseiros produzem resultados discrepantes nas replicatas.⁸

A calibração é uma fonte de erro sistemático quando utilizada de forma inadequada. A calibração externa é utilizada na maioria dos casos, mas nem sempre ela é a melhor escolha. Técnicas que dependem, por exemplo, do processo de nebulização na introdução da amostra, como a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) ou espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) são suscetíveis a interferências físicas, que podem gerar erros de amostragem e resultados inexatos. Nesse caso, é recomendado o uso de calibração com adição de padrão. Na Figura 1 estão apresentadas as curvas de calibração externa em meio aquoso (feijão comum) e com adição de padrão preparada com solventes diferentes (milho e grão de bico). O milho representa o solvente de menor tensão superficial e/ou viscosidade quando comparada a água (feijão), solvente comumente empregada na calibração externa. O grão de bico representa o solvente de maior tensão superficial e/ou viscosidade. A Figura 1 mostra que, embora as concentrações dos padrões sejam as mesmas (Tabela 1), as respostas analíticas (representadas pela quantidade de grão do analito) foram diferentes, resultando em sensibilidades distintas. A equação da curva de calibração externa (feijão comum: $y = 123,78x - 0,20$, $R^2 = 0,9997$) possui coeficiente angular inferior ao coeficiente angular da curva de calibração com adição de padrão preparada em meio ao milho ($y = 260,71x + 3,50$, $R^2 = 0,9924$) e superior àquela obtido em meio ao grão de bico ($y = 82,71x + 0,40$, $R^2 = 0,9851$). Esses dados permitem discutir com os alunos as diferenças de diâmetro das partículas representadas solventes (feijão comum, milho e grão de bico) e as suas influências no processo de nebulização. Como o milho tem o tamanho de partícula menor do que o feijão (meio aquoso), quantidades maiores de grãos (representando solvente e

analito) são amostradas em 50 mL. Ao contrário, o grão de bico possui partícula maior do que o feijão (meio aquoso), resultando em uma menor quantidade de partículas amostradas em 50 mL. Essas diferenças se refletem na mudança do coeficiente angular das curvas de calibração.

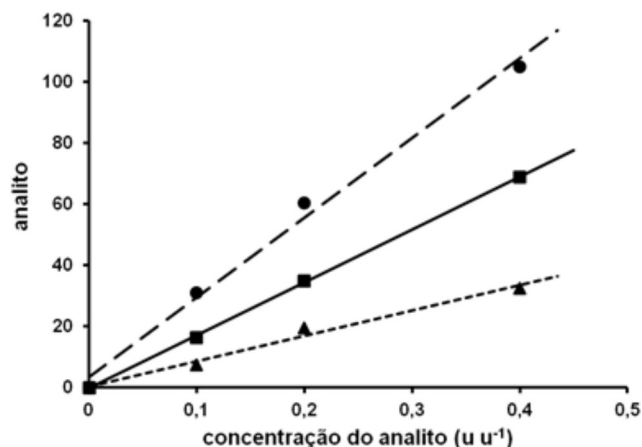


Figura 1. Curva analítica de calibração externa utilizando grão de bico (▲, $y = 82,71x + 0,40$, $R^2 = 0,9851$), feijão (■, $y = 123,78x - 0,20$, $R^2 = 0,9997$) e milho (●, $y = 260,71x + 3,50$, $R^2 = 0,9924$)

A inclusão de um PI aos padrões de calibração é uma estratégia para reduzir erros aleatórios e sistemáticos. O PI é uma substância que apresenta características similares aos analitos, mas que produzem sinais analíticos que não interferem nos sinais instrumentais produzidos pelos analitos. Uma mesma concentração de PI é adicionada aos padrões de calibração e às amostras. O cálculo da concentração do analito, após calibração do método com PI, é realizado considerando a resposta do analito e do PI, sujeitos às mesmas condições experimentais durante a medição.⁹ Vários procedimentos de análise instrumental utilizam PI para realizar a calibração do método. Técnicas espectrométricas multielementares, tais como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e a espectrometria de massas acoplada a fonte de plasma (ICP-MS), utilizam PI com intuito de corrigir erros associados às variações dos parâmetros instrumentais, experimentais e aos efeitos provocados pela matriz.¹⁰ Em técnicas de separação, como a eletroforese capilar e a cromatografia gasosa, o PI visa corrigir erros de amostragem, uma vez que o volume amostrado é muito baixo (poucos microlitros).¹¹ Erros devido à amostragem manual também podem ser minimizados com uso de PI.

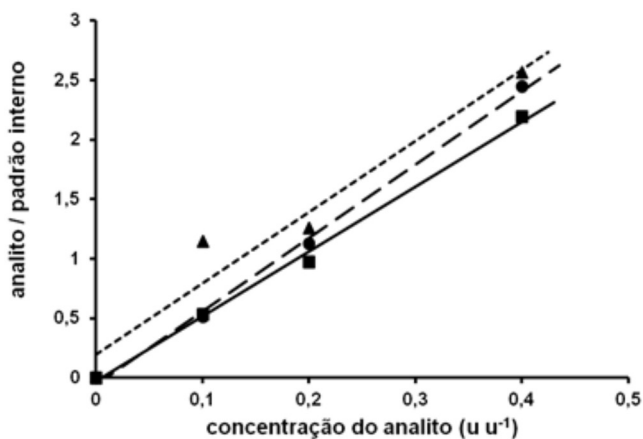
A importância do uso de PI na correção de erros de amostragem, a partir do experimento com grãos, pode ser verificada nos resultados da Tabela 3. Dez medidas feitas a partir da amostra preparada com feijão comum (meio aquoso), com e sem PI, foram feitas empregando-se volumes que variaram entre 30 e 50 mL. A amostragem de volumes variados foi feita para simular um possível erro de amostragem durante uma análise química, o qual tende a afetar a precisão das medidas. A quantidade de grãos de analito (feijão preto) obtido nessas medidas variou entre 21 e 39 (28% de coeficiente de variação) por causa de erros de amostragem. Por outro lado, quando a razão entre a quantidade de grãos de analito (feijão preto) e PI (feijão branco) foi calculada, o coeficiente de variação das medidas ($n=10$) diminuiu para 5,9%, corrigindo os erros de amostragem e melhorando a precisão das medidas.

Além de melhorar a precisão das medidas, o PI possibilita aumentar a exatidão dos resultados analíticos. O PI pode ser empregado como alternativa à calibração por adição de padrão, quando essa

Tabela 3. Resultados de precisão de 10 medidas consecutivas de uma mesma amostra (0,25 u u⁻¹ feijão comum) utilizando ou não o padrão interno

Volume amostrado (mL)	Quantidade total de grãos	Quantidade de feijão preto (analito)	Quantidade de feijão branco (PI)	Razão (analito/PI)
40	136	24	23	1,04
50	176	38	39	0,97
50	175	32	33	0,96
50	178	40	30	1,33
45	154	24	26	0,92
30	104	21	24	0,87
30	117	24	23	1,04
35	114	27	21	1,28
40	132	26	27	0,96
50	183	39	44	0,88
Média ± SD (CV)	33 ± 9 (28%)	29 ± 6 (21%)	0,92 ± 0,05 (5,9%)	

última é empregada para corrigir interferências físicas. Enquanto as curvas de calibração preparadas em meio de feijão comum, milho e grão de bico apresentam diferentes coeficientes angulares (Figura 1), observa-se a sobreposição das curvas quando se considera o uso da calibração com PI (Figura 2), revelando que as interferências ocasionadas pelo aumento ou diminuição da tensão superficial e/ou viscosidade (grão de bico ou milho, respectivamente) são significativamente minimizadas. Esse experimento fornece aos alunos uma visão macroscópica do papel do PI na curva de calibração.

**Figura 2.** Curva analítica de calibração com padrão interno (0,2 u u⁻¹ de feijão branco) utilizando grão de bico (▲, $y = 5,98x + 0,20$, $R^2 = 0,9461$), feijão (■, $y = 5,45x - 0,03$, $R^2 = 0,9959$) e milho (●, $y = 6,16x - 0,06$, $R^2 = 0,9972$)

Um volume de 50 mL das amostras contendo 0,25 u u⁻¹ de analito (Tabela 2) foi analisado empregando curvas de calibração (i) externa, (ii) com adição de padrão e (iii) com adição de PI. Os

resultados obtidos para as análises empregando calibração externa (Tabela 4) mostraram que apenas a amostra preparada em meio de feijão comum teve o resultado próximo ao valor de referência. A amostra preparada com milho apresentou resultado superestimado; a amostra preparada com grão de bico apresentou resultado subestimado. Esses resultados permitem discutir com os alunos o efeito da mudança do tamanho de partículas dos grãos que representam os solventes, nos quais se preparou os padrões de calibração e as amostras. Na amostra preparada em meio ao milho, a quantidade de grãos total de grãos (aproximadamente 260 grãos) no frasco de 50 mL, utilizado na amostragem, é muito superior àquela amostra preparada em meio ao feijão comum (aproximadamente 160 grãos). Por outro lado, a quantidade de total de grãos na amostra preparada em meio ao grão de bico é muito inferior (aproximadamente 80 grãos). Com esses resultados pode-se explicar a influência da matriz no processo de introdução de amostras como aquele comumente observado em instrumentos que utilizam nebulizadores pneumáticos. Sabe-se que nesses casos, a tensão superficial do solvente ou da amostra altera a eficiência na formação dos aerossóis enquanto a viscosidade altera a taxa de aspiração.⁷

Os resultados das análises da amostra preparada usando milho podem ser comparados àqueles observados quando a matriz apresenta uma baixa tensão superficial e/ou viscosidade. Nessas situações a eficiência na introdução de amostra é maior devido à facilidade na formação dos aerossóis ou à maior taxa de aspiração (menor tensão superficial e/ou viscosidade do solvente quando comparada à água). Como consequência, resultados superestimados são observados quando a calibração externa é empregada nas análises.

Ao contrário, resultados subestimados foram observados quando amostras preparadas usando grão de bico foram analisadas. O grão de bico, nesse caso, representa o solvente com alta tensão superficial e/ou viscosidade, o que diminui a eficiência na introdução de amostra por dificultar o processo de formação do aerossol ou a taxa de aspiração da amostra. Como consequência, a eficiência na introdução de amostra é menor, gerando resultados subestimados.

Com esse experimento, pode-se, portanto, explorar conceitos de interferências físicas e a geração de resultados inexatos com os alunos. A possibilidade em comparar os resultados encontrados com os valores de referência permite também apresentar ensaios de avaliação de exatidão de métodos, e por consequência o uso de testes estatísticos como o *test-t student*.

Quando essas mesmas amostras foram analisadas utilizando-se calibração com adição de padrão, observaram-se resultados concordantes com o valor de referência para todas as amostras (Tabela 4), indicando que o uso de calibração com adição de padrão é uma estratégia para corrigir interferências físicas.

Os resultados das análises das amostras empregando curva analítica de calibração com PI concordaram com o valor de referência (0,25 u u⁻¹) para todas as amostras. Nesse caso, apesar da calibração ter sido construída em meio de feijão comum, resultados concordantes foram obtidos para amostras preparadas em meio a milho e/ou grão de bico. A interferência física que seria causada pela diferença do tamanho de partícula foi corrigida com o uso de PI.

Tabela 4. Resultados das análises das amostras de referência (Tabela 2) obtidas usando calibração externa e calibração com padrão interno

Amostra	Valor encontrado, u u ⁻¹ (Recuperação, %)		
	Calibração externa	Calibração com adição de padrão	Calibração com PI
Feijão comum	0,23 ± 0,02 (92)	0,23 ± 0,02 (92)	0,26 ± 0,06 (103)
Milho	0,39 ± 0,02 (157)	0,25 ± 0,03 (100)	0,24 ± 0,02 (96)
Grão de bico	0,10 ± 0,03 (39)	0,18 ± 0,06 (72)	0,23 ± 0,01 (92)

Valor de referência = 0,25 u u⁻¹.

CONCLUSÕES

A proposta desse artigo foi apresentar um experimento simples e de baixo custo para discutir conceitos de calibração em Química Analítica. A solução conceitual encontrada pelos autores parece suficientemente madura para ser levada às salas de aula. Sugere-se que esse experimento seja feito nas aulas iniciais da disciplina de Química Analítica Instrumental, para que os obstáculos de aprendizagem relacionados aos conceitos de interferência e calibração sejam enfrentados antes da apresentação das técnicas de análise. O uso de grãos de diferentes tamanhos possibilitou visualizar macroscopicamente os possíveis efeitos de interferência de matriz comumente presente nas análises químicas. A diferença conceitual entre as calibrações externa, com adição de padrão e com padrão interno pode ser esclarecida e discutida a partir de problemas analíticos, tais como na presença de interferências de matriz. No caso da calibração com padrão interno, foi possível também observar que o seu uso pode trazer benefícios como a melhoria da exatidão e precisão dos resultados analíticos, além de corrigir e/ou minimizar as interferências de matriz.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, (Processo nº 2012/22693-5, Processo nº 2012/11998-0, Processo nº 2008/04709-6, Processo nº 2011/09941-7) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e

Tecnológico, CNPq (Processo nº 486194/2011-6, 475455/2013-4 e 475282/2013-2) pelo auxílio financeiro aos PRMC, JN e CSN, e pela bolsa concedida ao DMS.

REFERÊNCIAS

1. Grant, R.; Grant, C.; *Grant and Hack's Chemical Dictionary*, 5th ed., McGraw-Hill: New York, 1987.
2. Nomura, C. S.; Santos, C. S.; Oliveira, P. V.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 104.
3. Donati, G. L.; Santos, M. C.; Fernandes, A. P.; Nóbrega, J. A.; *Spectrosc. Lett.* **2008**, *41*, 251.
4. Ross, M. R.; Bacon, D. W.; Wolsey, W. C.; *J. Chem. Educ.* **2000**, *77*, 1015.
5. Canaes, L. S.; Brancalion, M. L.; Rossi, A. V.; Rath, S.; *J. Chem. Educ.* **2008**, *85*, 1083.
6. Miranda, K.; Dionísio, A. G. G.; Pereira-Filho, E. R.; *Microchem. J.* **2010**, *96*, 99.
7. Canals, A.; Hernandis, V.; Todolí, J. L.; *Spectrochim. Acta, Part B* **1995**, *50*, 4.
8. Miller, J. C.; Miller, J. N.; *Statistics for Analytical Chemistry*, 3rd ed., Prentice Hall, 1993.
9. Feldman, F. J.; *Anal. Chem.* **1970**, *42*, 719.
10. Finley-Jones, H. J.; Molloy, J. L.; Holcombe, J. A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, *23*, 1214.
11. Harris, D. C.; *Análise Química Quantitativa*, 7^a ed., LTC: Rio de Janeiro, 2008.