



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

LAIANA OLIVEIRA BASTOS SILVA

**ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE
COBRE E CÁDMIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS
EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA
COM GERAÇÃO DE VAPOR QUÍMICO**

Salvador
2014

LAIANA OLIVEIRA BASTOS SILVA

**ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE
COBRE E CÁDMIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS
EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA
COM GERAÇÃO DE VAPOR QUÍMICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira

Salvador
2014

Sistema de Bibliotecas – IQ/UFBA

Silva, Laiana Oliveira Bastos.

Estratégias analíticas para determinação de cobre e cádmio em amostras ambientais empregando espectrometria de absorção atômica com geração de vapor químico / Laiana Oliveira Bastos Silva. - 2014.

154 f: il.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador, 2014.

1. Água – Análise. 2. Cobre. 3. Cádmio. 4. Espectrometria de absorção atômica. 5. Análise espectral. I. Ferreira, Sérgio Luis Costa. II. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. III. Título.

CDD – 543.3

CDU – 543.3:543.62

TERMO DE APROVAÇÃO

LAIANA OLIVEIRA BASTOS SILVA

“ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE COBRE E CÁDMIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE VAPOR QUÍMICO”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira 
Doutorado em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RJ)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Bernhard Welz 
Doutorado em Anorganische Chemie, Technische Hochschule Stuttgart
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Roy Edward Bruns 
Doutorado em Química, Oklahoma State University
Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Walter Nei Lopes dos Santos 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Estadual da Bahia

Prof. Dr. Antonio Fernando de Souza Queiroz 
Doutorado em Geologia, Université Louis Pasteur de Strasbourg
Universidade Federal da Bahia

Salvador, 29 de setembro de 2014.

A todos que semearam e cultivaram, durante a minha jornada, a semente do amor, da humildade e da curiosa dúvida. DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e grandes oportunidades de evolução. Agradeço por mais uma etapa de muito aprendizado e crescimento.

Ao meu orientador Professor Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira pela preciosa orientação, carinho e dedicação. Serei eternamente grata por todas as oportunidades, incentivos, ensinamentos e palavras amigas.

À minha mãe, meu porto seguro, por todo amor e apoio incondicional. No mundo não há ser humano que mais vibre e torça pela minha felicidade e sucesso. Te amo!

Ao meu pai, irmã e familiares pelo amor, carinho e torcida. Cada um com sua particularidade me ensinou a crescer e a lidar com as diversidades da vida.

Ao Irênio Júnior por todo companheirismo, dedicação, amor e momentos incríveis que nos revelam a grandeza dos bons e sinceros sentimentos.

A todos os professores que contribuíram com seus valiosos ensinamentos e debates nesta jornada. Vocês foram fundamentais!

Ao Dr. Geraldo Matos por toda contribuição, amizade, ensinamentos e apoio.

Ao Professor Dr. Víctor Cerdà que com dedicação, paciência e excelente acolhimento me orientou durante o doutorado sanduíche na Espanha. Meu muito obrigado por tudo!

À Dra Laura Ferrer por toda disposição a ajudar, carinho e solidariedade durante a minha estância na Espanha.

Ao Dr. Lindomar Portugal, pessoa única e de enorme coração. Meu período na Espanha não seria o mesmo se você não estivesse presente. Obrigada de coração por toda ajuda, amizade, palavra e acolhimento.

A Danilo e Mário por toda amizade e momentos de descontração no laboratório. A ajuda de vocês foi imprescindível em cada etapa deste trabalho, tenha sido ela na forma de palavra amiga ou nos experimentos. Meu muito obrigada, sei que torcem por mim!

Aos amigos conquistados durante a realização do doutorado no laboratório do Grupo de Pesquisa em Química e Quimiometria (GRPQQ): Geovani, Douglas, Arlene, Daniel, Rogete, Ivanice, Uenderson, Raineldes, Adriana, Débora, Augusto, Daniela Pessoa, Luciana, Ana Pinto, Neyla, Walter, Fernanda, Michael, Liz, Dannuza e Robson. A presença, contribuição e carinho de cada um de vocês foi fundamental para o meu desenvolvimento pessoal e profissional. Nosso café científico de cada dia foi a peça chave e marcante desta jornada. Obrigada a todos!

Aos queridos vizinhos de laboratório: Gabriel, Jorginho, Larissa, Geysa, Milena, Daniele e Aldo.

A todos os funcionários da UFBA que com dedicação nos atendem cordialmente e auxiliam nas tarefas do dia a dia, especialmente Dona Margarida, Luciana, Michel e Cris.

Aos amigos Roberto, Hênia, Carina, Cíntia, Bruce, Ligia, Isa, Helden, Murilo e Débora que sempre torceram por mim e pela minha felicidade.

À CAPES pela bolsa concedida durante a realização deste trabalho de doutorado.

Ao CNPq pela bolsa e auxílio concedidos durante a realização do doutorado sanduíche no exterior (SWE).

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram e torceram por mim.

*"O homem nasceu para aprender,
aprender tanto quanto a vida lhe permita"*

Guimarães Rosa

RESUMO

O presente trabalho versa sobre o desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de cobre e cádmio em amostras ambientais empregando geração de vapor químico e espectrometria de absorção atômica. Dentro deste tema, dois trabalhos foram elaborados. O primeiro consistiu no desenvolvimento de um método para a determinação de cobre em material particulado atmosférico empregando a amostragem em suspensão como estratégia de preparo de amostra e a espectrometria de absorção atômica com geração de vapor químico (CVG AAS). Ferramentas quimiométricas foram empregadas para avaliar a influência de fatores químicos e físicos na geração de espécies voláteis de cobre. Primeiramente, um planejamento fatorial completo (2^4) foi realizado incluindo as variáveis: concentração de HCl, concentração de NaBH_4 , concentração de sulfanilamida e volume de NaBH_4 . Dentro do domínio experimental avaliado, a concentração de HCl exerceu a maior influência na geração de espécies voláteis de cobre, apresentando um efeito negativo. Na sequência, um planejamento Box-Behnken foi realizado para a determinação das condições ótimas dos fatores que mais influenciaram a reação de geração. Um segundo estudo quimiométrico foi realizado aplicando um planejamento fatorial completo (2^4) para avaliar os fatores: vazão de introdução de NaBH_4 , composição da chama, volume de álcool isoamílico e volume da amostra. A vazão de NaBH_4 foi o fator mais crítico e a composição da chama e suas interações não foram significativas para o sistema. Os experimentos quimiométricos permitiram estabelecer as condições experimentais ótimas do método, o qual possibilitou a determinação de cobre com limites de detecção e quantificação de 0,3 e $1 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A exatidão do método foi confirmada por análise de material de referência certificado de material particulado urbano (SRM 1648a) e a precisão em termos de RSD % foi inferior a 5 %. O método foi aplicado para a determinação de cobre em amostras de material particulado atmosférico coletadas em duas regiões do estado da Bahia, Brasil, cujas concentrações variaram entre 14 a 164 ng m^{-3} . O segundo trabalho envolveu o desenvolvimento de um sistema automatizado para a determinação de cádmio em águas naturais empregando análise por injeção em fluxo com multiseringas (MSFIA) e espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS). As condições experimentais foram investigadas e otimizadas utilizando metodologia de otimização multivariada, como o planejamento fatorial completo (2^k) e Box-Behnken. Alguns agentes quelantes foram testados como aditivos para melhorar a sensibilidade, sendo que dentre esses a tiouréia influenciou positivamente, enquanto a L-cisteína provocou supressão do sinal. O método proposto permitiu a determinação direta de cádmio em amostras de águas naturais, ou seja, sem etapa de pré-concentração, com limites de detecção e quantificação de 6 e 19 ng L^{-1} , respectivamente. A exatidão do método foi confirmada mediante análise de material de referência certificado de água de mar (CASS-4) e um rendimento de injeção de 87 h^{-1} foi obtido utilizando 2 mL de amostra. Investigações de efeitos de outros íons evidenciaram críticas interferências de Cu(II) , Ni(II) , Co(II) e Se(IV) na geração de vapor de Cd, quando estes estão a uma concentração de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$. O método foi satisfatoriamente aplicado para a determinação de Cd em amostras de água de poço e de mar coletadas em Mallorca, Espanha.

ABSTRACT

This work deals about the development of analytical methods for copper and cadmium determinations in environmental samples employing chemical vapor generation and atomic absorption spectrometry. Within this theme, two works were elaborated. The first was the development of a method for copper determination in airborne particulate matter employing slurry sampling as sample preparation strategy and atomic absorption spectrometry with chemical vapor generation (CVG AAS). Chemometric tools were used to characterize the influence of chemical and physical factors on the generation of volatile copper species. First, a full factorial design (2^4) was performed including the variables: HCl concentration, NaBH_4 concentration, sulfanilamide concentration and NaBH_4 volume. Under the evaluated experimental domain, the HCl concentration had the greatest influence on the generation of volatile copper species, showing a negative effect. Subsequently, a Box-Behnken design was performed to determine the optimum conditions of the factors that most influenced the generation reaction. A second multivariate study was conducted by applying a full factorial design (2^4) to evaluate the following factors: NaBH_4 introduction flow rate, flame composition, isoamyl alcohol volume and sample volume. The NaBH_4 flow rate was the most critical factor and the flame composition and their interactions were not significant for the system. The chemometric experiments allowed to determine the optimal experimental conditions of the method, which allowed the copper determination with detection and quantification limits of 0.3 and $1 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The accuracy was confirmed by analysis of certified reference material of urban particulate matter (SRM 1648a) and the precision, expressed as RSD%, was less than 5 %. The method was applied to the determination of copper in airborne particulate matter samples collected in two regions of Bahia State, Brazil, whose concentrations ranged from 14 to 164 ng m^{-3} . The second work involved the development of an automated system for cadmium determination in natural waters samples using multisyringe flow injection analysis (MSFIA) and atomic absorption spectrometry with cold vapor generation (CV AAS). The experimental conditions were investigated and optimized using multivariate optimization methodology, as the full factorial design (2^k) and Box-Behnken. Some complexing reagents were tested as additives for improving sensitivity and among these thiourea had positive influence, while L-cysteine induced signal suppression. The proposed method allows the direct determination of cadmium in natural water samples, i.e. without a pre-concentration step, with detection and quantification limits of 6 and 19 ng L^{-1} , respectively. The accuracy was confirmed by analysis of a certified reference material of seawater (CASS-4) and an injection throughput of 87 h^{-1} was obtained using 2 mL of sample. Investigations of effects of other ions showed critical interference of Cu (II) , Ni (II) , Co (II) and Se (IV) in cadmium vapor generation, when they are at a concentration of 2.5 mg L^{-1} . The method was satisfactorily applied for cadmium determination in seawater and ground water samples collected in Mallorca, Spain.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Esquema de classificação de interferências não-espectrais na técnica de geração de hidretos.....	44
Figura 2	Gráfico das médias marginais para avaliação do efeito de interação ($C_{HCl} \times C_{NaBH_4}$).....	81
Figura 3	Gráficos das médias marginais para estudo dos efeitos de interação ($V_{NaBH_4} \times C_{NaBH_4}$) e ($C_{HCl} \times V_{NaBH_4}$).....	83
Figura 4	Gráfico de pareto em função dos valores da estatística de teste t referente ao estudo dos fatores químicos da reação de íons de Cu (II) com tetrahydroborato.....	84
Figura 5	Superfícies de resposta (a) = (ABS x [HCl] x [NaBH ₄]), (b) = (ABS x [Sulfanilamida] x [HCl]), (c) = (ABS x [Sulfanilamida] x [NaBH ₄]).....	86
Figura 6	Gráfico de pareto em função dos valores da estatística de teste t referente ao estudo dos fatores físicos envolvidos na geração de vapor químico de cobre.....	90
Figura 7	Gráficos das médias marginais para avaliação dos efeitos de interação ($V_{NaBH_4} \times V_{líquida}$) e ($V_{álcool} \times V_{líquida}$).....	91
Figura 8	Sistema MSFIA-CV AAS para determinação de cádmio.....	105
Figura 9	Gráfico de Pareto em função dos valores da estatística de teste t para os fatores principais estudados no sistema para a determinação de Cd por MSFIA-CV AAS.....	114
Figura 10	Gráfico das medias marginais envolvendo os fatores [HCl], [NaBH ₄] e Vol.NaBH ₄	115
Figura 11	Superfícies de resposta para os dados do planejamento fatorial completo (a) = (ABS x [NaBH ₄] x [HCl]), (b) = (ABS x Vol. álcool x [HCl]), (c) = (ABS x Vol. NaBH ₄ x [HCl]), (d) = (ABS x Vol. álcool x [NaBH ₄]), (e) = (ABS x Vol. NaBH ₄ x Vol. álcool) e (f) = (ABS x Vol. NaBH ₄ x [NaBH ₄]).....	117
Figura 12	Superfícies de resposta para os dados do planejamento Box-Behnken (a) = (ABS x [NaBH ₄] x [HCl]), (b) = (ABS x Vol. álcool x [HCl]), (c) = (ABS x Vol. NaBH ₄ x [HCl]), (d) = (ABS x Vol. álcool x [NaBH ₄]), (e) = (ABS x Vol. NaBH ₄ x [NaBH ₄]) e (f) = (ABS x Vol. NaBH ₄ x Vol. álcool).....	120

Figura 13	Gráfico de pareto em função dos valores da estatística de teste t do planejamento fatorial completo envolvendo os fatores secundários.....	125
Figura 14	Superfície de resposta (ABS x vazão de argônio x vazão de NaBH ₄).....	125
Figura 15	Representação gráfica do estudo univariado para a vazão de argônio.....	126
Figura 16	Sinal analítico para uma solução de cádmio 5 µg L ⁻¹ . Absorvância por altura de pico equivalente a 0,699 ± 0,008.....	129
Figura 17	Perfil do pico de um branco analítico. Absorvância medida equivalente a 0,006.....	129
Figura 18	Estudo univariado do efeito da concentração de tiouréia sobre o sinal analítico (ABS) empregando solução de cádmio 0,5 µg L ⁻¹ .	131
Figura 19	Efeito de interferência de alguns metais de transição, em termos do sinal relativo de cádmio (%).....	138
Figura 20	Efeito de interferência de alguns elementos clássicos formadores de hidreto, em termos do sinal relativo de cádmio (%).....	138
Figura 21	Efeito de interferência de alguns elementos coexistentes em matrizes aquosas naturais, em termos do sinal relativo de cádmio (%).....	139

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Limites máximos admissíveis de cádmio em águas doce e salgada segundo os critérios de qualidade da água da EPA publicado em 2001.....	30
Tabela 2	Concentração máxima admissível para cádmio de acordo com as classes das águas superficiais segundo Diretiva (2013/39/UE) do Parlamento Europeu.....	31
Tabela 3	Diretrizes para qualidade da água para proteção da vida aquática quanto as concentrações de cádmio estabelecidas pelo CCME em 2014.....	32
Tabela 4	Emprego da geração de vapor químico e de técnicas espectroanalíticas para a determinação de cobre em amostras diversas.....	49
Tabela 5	Métodos analíticos propostos para a determinação de Cd empregando a técnica de geração de vapor frio acoplada a técnicas espectroanalíticas.....	55
Tabela 6	Matrizes de planejamento fatorial completo para 2, 3 e 4 fatores	61
Tabela 7	Matriz de planejamento fatorial completo (2^3) com os respectivos sinais das interações.....	62
Tabela 8	Matriz do planejamento fatorial fracionário de fração meia para 4 fatores.....	64
Tabela 9	Comparação entre as metodologias de superfícies de respostas: Composto central (CC), Doehlert (D) e Box-Behnken (BB).....	67
Tabela 10	Planejamento fatorial para os parâmetros químicos envolvidos na geração de vapor de espécies de cobre.....	79
Tabela 11	Planejamento Box-Behnken para os parâmetros químicos envolvidos na geração de vapor de espécies de cobre.....	85
Tabela 12	Resumo das condições experimentais ótimas para os fatores químicos investigados envolvidos na geração de espécies voláteis de cobre.....	86
Tabela 13	Análise da variância (ANOVA) para os dados apresentados na Tabela 11.....	87
Tabela 14	Relação entre composição da chama e as vazões de ar e acetileno utilizadas.....	88

Tabela 15	Planejamento fatorial completo (2^4) para os parâmetros físicos envolvidos na geração de vapor de espécies de cobre.....	89
Tabela 16	Resumo das condições experimentais ótimas para os fatores físicos investigados envolvidos na geração de espécies voláteis de cobre.....	93
Tabela 17	Avaliação do efeito do diluente na eficiência de extração durante o preparo da suspensão de material particulado urbano	94
Tabela 18	Teste <i>spike</i> usando amostra de material particulado atmosférico (n=3).....	96
Tabela 19	Concentrações de cobre determinadas em amostras de material particulado atmosférico empregando CVG QTA AAS (n=3).....	97
Tabela 20	Sequência de comandos das multisingas utilizando programa AutoAnalysis para determinação de Cd por MSFIA-CV AAS.....	108
Tabela 21	Parâmetros característicos do sistema MSFIA-CV AAS para determinação de cádmio em águas naturais complexas.....	109
Tabela 22	Matriz de experimentos e resultados do planejamento fatorial completo (2^4) para determinação de cádmio empregando MSFIA-CV AAS.....	112
Tabela 23	Análise da variância do planejamento fatorial completo apresentado na Tabela 22.....	113
Tabela 24	Relação entre a condição de introdução de uma certa massa de NaBH_4 e o sinal de ABS.....	116
Tabela 25	Matriz de experimento e resultados do planejamento Box-Behnken para determinação de cádmio empregando MSFIA-CV AAS.....	119
Tabela 26	Valores críticos codificados e reais dos fatores otimizados utilizando planejamento Box-Behnken.....	122
Tabela 27	Análise da variância (ANOVA) para os dados apresentados na Tabela 25.....	123
Tabela 28	Matriz de experimentos e resultados do planejamento fatorial completo (2^2) para determinação de cádmio empregando MSFIA-CV AAS.....	124

Tabela 29	Resumo das condições gerais para geração e determinação de Cd empregando MSFIA-CV AAS.....	128
Tabela 30	Avaliação do efeito da adição de complexantes sobre sinal analítico (ABS) de cádmio.....	131
Tabela 31	Condições finais empregadas na geração e determinação de Cd em água naturais usando o sistema MSFIA-CV AAS.....	132
Tabela 32	Precisão em termos de desvio padrão relativo calculada para 10 medidas de padrões aquosos de distintas concentrações.....	134
Tabela 33	Teste de adição e recuperação de cádmio em amostras de água de mar e de poço (n=3).....	135
Tabela 34	Teste comparativo entre as inclinações da curva analítica usando padrões aquosos e amostras de água de mar e de poço.....	136
Tabela 35	Efeito de metais de transição, elementos clássicos formadores de hidretos e alguns elementos coexistentes em matrizes aquosas naturais na geração e liberação de vapor de cádmio.....	137
Tabela 36	Concentrações de cádmio determinadas em amostras de água de poço de Mallorca empregando MSFIA-CV AAS (n=3).....	141
Tabela 37	Concentrações de cádmio determinadas em amostras de água de mar de Palma de Mallorca empregando MSFIA-CV AAS (n=3).....	141
Tabela 38	Análise comparativa entre métodos propostos para determinação de cobre e cádmio empregando diferentes técnicas de detecção.....	143

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica, do inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
ABS	Absorvânica
ACGIH	Conferência Americana de Higienistas Industriais Governamentais, do inglês <i>American Conference of Industrial Hygienists</i>
ANOVA	Análise de Variância
CCME	Conselho Canadense de Ministros do Meio Ambiente, do inglês <i>Canadian Council of Ministers of the Environment</i>
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CRM	Material de referência certificado, do inglês <i>Certified Reference Material</i>
CV	Vapor frio, do inglês <i>Cold Vapor</i>
CV AFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica com Vapor Frio, do inglês <i>Cold vapor atomic fluorescence spectrometry</i>
CVG	Geração de Vapor Químico, do inglês <i>Chemical Vapor Generation</i>
CVG QTA AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização em Tubo de Quartzo e Geração de Vapor Químico
EPA	Agência de Proteção Ambiental, do inglês <i>Environmental Protection Agency</i>
ETAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica, do inglês <i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i>
FIA	Análise por Injeção em Fluxo, do inglês <i>Flow Injection Analysis</i>
GFAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite, do inglês <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
HG	Geração de Hidreto, do inglês <i>Hydride Generation</i>
ICP-MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
IDLH	Imediatamente Perigosa à Vida ou à Saúde, do inglês <i>Immediately Dangerous to Life or Health</i>

IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MCFIA	Análise por Injeção em Fluxo Multicomutado, do inglês <i>Multicommutated Flow Injection Analysis</i>
MPS	Sistemas Multibombas, do inglês <i>Multipump Systems</i>
MSFIA	Análise por injeção em fluxo com multiseringas, do inglês <i>Multisyringe Flow Injection Analysis</i>
NIOSH	Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional, do inglês <i>National Institute for Occupational Safety and Health</i>
NRCC	Conselho Nacional de Pesquisa do Canadá, do inglês <i>National Research Council Canada</i>
OSHA	Administração de Segurança e Saúde Ocupacional, do inglês <i>Occupational Safety & Health Administration</i>
PEL	Limites de Exposição Permissíveis, do inglês <i>Permissible Exposure Limits</i>
QTA AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização em Tubo de Quartzo, do inglês <i>Quartz Tube Atomizer Atomic Absorption Spectrometry</i>
RSD	Desvio Padrão Relativo, do inglês <i>Relative Standard Deviation</i>
SFA	Análise em Fluxo Segmentado, do inglês <i>Segmented Flow Analysis</i>
SIA	Análise por Injeção Sequencial, do inglês <i>Sequential Injection Analysis</i>
THB	(Sais de) Tetrahidroborato
TLV	Valor Limite, do inglês <i>Threshold Limit Value</i>

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	21
OBJETIVOS.....	23
CAPÍTULO I	
ESTADO DA ARTE.....	25
1.1 O ELEMENTO COBRE.....	25
1.1.1 Aspectos gerais e toxicidade.....	25
1.1.2 A importância da determinação de cobre em material particulado atmosférico.....	26
1.2 O ELEMENTO CÁDMIO.....	28
1.2.1 Aspectos gerais e toxicidade.....	28
1.2.2 A importância da determinação de cádmio em águas naturais.....	29
1.3 GERAÇÃO DE VAPOR QUÍMICO EMPREGANDO TETRAHIDROBORATO.....	33
1.3.1 A técnica de geração de hidretos.....	34
1.3.2 Geração de hidretos e espectrometria atômica.....	36
1.3.2.1 Geração e transporte do hidreto.....	36
1.3.2.2 Atomização do hidreto.....	40
1.3.2.3 Interferências.....	43
1.3.3 Emprego da geração de vapor químico e técnicas espectroanalíticas na determinação de cobre	46
1.3.4 Geração de vapor frio e espectrometria atômica	51
1.3.4.1 Emprego da técnica de geração de vapor frio e espectrometria atômica na determinação de cádmio	54
1.4 QUIMIOMETRIA.....	58

1.4.1	Planejamento e otimização de experimentos	58
1.4.1.1	Planejamento fatorial completo e fracionário	59
1.4.1.2	Metodologia de superfícies de resposta	65
1.4.2	Aplicações de ferramentas quimiométricas no estudo da geração de vapor químico de cobre e cádmio empregando sais de tetrahidroborato	68

CAPÍTULO II

	DETERMINAÇÃO DE COBRE EM MATERIAL PARTICULADO ATMOSFÉRICO EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE VAPOR QUÍMICO.....	73
2.1	INTRODUÇÃO.....	73
2.2	EXPERIMENTAL.....	74
2.2.1	Instrumentação para a determinação de cobre por CVG QTA AAS	74
2.2.2	Reagentes.....	75
2.2.3	Amostras de material particulado atmosférico	75
2.2.4	Preparo das amostras.....	76
2.2.5	Estratégia de otimização	76
2.2.6	Procedimento geral.....	77
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	77
2.3.1	Otimização dos fatores químicos envolvidos na reação de íons de Cu (II) com THB.....	77
2.3.2	Otimização dos parâmetros físicos na determinação de cobre por CVG QTA AAS	87
2.3.3	Estudos referentes ao preparo da amostra	93
2.3.4	Características analíticas do método.....	94
2.3.5	Determinação de cobre em material particulado atmosférico.....	96
2.4	CONSIDERAÇÕES PARCIAIS.....	97

CAPÍTULO III

PROCEDIMENTO ANALÍTICO AUTOMATIZADO PARA A DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO EM ÁGUAS NATURAIS EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE VAPOR FRIO E SISTEMA DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO COM MULTISERINGAS (MSFIA-CV AAS).....		99
3.1	INTRODUÇÃO.....	99
3.2	ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO COM MULTISERINGAS (MSFIA).....	100
3.2.1	Software AutoAnalysis.....	101
3.3	EXPERIMENTAL.....	102
3.3.1	Equipamentos e acessórios.....	102
3.3.2	Reagentes e soluções.....	103
3.3.3	Amostras de água de poço e água de mar.....	103
3.3.4	Estratégia de otimização - ferramentas quimiométricas	104
3.3.5	Procedimento analítico geral.....	104
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	110
3.4.1	Otimização das condições experimentais para a determinação de cádmio por MSFIA-CV AAS.....	110
3.4.1.1	Otimização dos fatores principais.....	110
3.4.1.2	Otimização dos fatores secundários.....	123
3.4.1.3	Resumo das condições do sistema para geração e detecção de cádmio empregando MSFIA-CV AAS.....	127
3.4.1.4	Estudo para aumento da sensibilidade do método proposto para determinação de cádmio.....	130
3.4.2	Validação do método analítico.....	132
3.4.3	Estudo de interferência (efeito de outros íons).....	136
3.4.4	Aplicação do método proposto para a determinação de cádmio em amostras de águas naturais.....	140
3.5	CONSIDERAÇÕES PARCIAIS.....	142

CAPÍTULO IV	
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	143
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	145

INTRODUÇÃO GERAL

A geração de vapor químico (CVG) acoplada a espectrometria atômica é amplamente empregada na determinação de quantidades traço e até ultratraços de metais e metalóides em uma variedade de matrizes ambientais, alimentícias e biológicas. O sucesso desse acoplamento se deve ao fato da técnica de geração de vapor ser uma excelente alternativa de introdução de amostras, que substitui de forma eficiente os nebulizadores comumente empregados, gerando grandes benefícios analíticos para o sistema. A separação do analito da matriz, o excelente poder de detecção e a maior seletividade constituem as principais vantagens dessa técnica [1].

Numerosas abordagens de geração de vapor químico estão disponíveis, como a geração de hidretos, de vapor frio, de etil e butil derivados, cloretos, fluoretos, carbonilas e ditiocarbamatos. Dentre estas, as que desfrutam de maior popularidade são: a geração de vapor frio (para Hg e Cd) e a geração de hidretos voláteis, uma vez que são intrinsecamente simples e de fácil implementação, além de englobarem processos rápidos de derivatização em soluções aquosas com sais de tetrahidroborato. Em especial, a difusão dessa técnica e sua grande aplicabilidade se deram de forma rápida em virtude desses sais [1,2].

A técnica de geração de espécies voláteis empregando o sistema tetrahidroborato/ácido já é bem difundida e aplicada para Hg (em geração de vapor frio) e para os elementos chamados formadores de hidretos (As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Te e Sn). O seu uso tem sido estendido para incluir outros elementos, como os metais nobres e de transição, os quais estão sendo alvo de intenso estudo, uma vez que busca-se esclarecimentos em relação à natureza das espécies voláteis geradas e aos fatores que influenciam a sua geração.

Estratégias de otimização multivariada auxiliam de forma eficaz e econômica o estudo da geração de vapor químico de metais e metalóides empregando o tetrahidroborato. Esta ferramenta quimiométrica permite a avaliação simultânea dos efeitos das variáveis e de suas interações no processo de geração, além de determinar a melhor condição de geração de

vapor com um número relativamente pequeno de experimentos. Em adição, fornece uma quantidade de dados e informações úteis para elucidar e ratificar propostas mecanísticas abordadas no meio científico.

A aplicação dos princípios da geração de vapor químico no desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de cádmio e cobre em amostras ambientais vem se difundindo no meio científico e interessantes trabalhos estão sendo publicados, empregando as mais variadas técnicas espectroanalíticas e incluindo estratégias baseadas em sistemas em fluxo como a análise por injeção em fluxo (FIA) e fluxo contínuo (CF), estudos de enriquecimento de sinal e procedimentos de preparo de amostra como decomposição e pré-concentração.

No presente trabalho, foram desenvolvidos procedimentos para a determinação de cobre e cádmio, empregando princípios da geração de vapor químico e a espectrometria de absorção atômica como técnica de detecção. Além disso, foram exploradas estratégias alternativas de preparo de amostra, como amostragem em suspensão e de sistemas em fluxo, como a técnica de multicomutação MSFIA.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Desenvolver métodos analíticos para determinação de cobre e cádmio em amostras ambientais empregando espectrometria de absorção atômica com geração de vapor químico.

Objetivos específicos

- Desenvolver um procedimento analítico para determinação de cobre em amostras de material particulado atmosférico empregando amostragem em suspensão e espectrometria de absorção atômica com atomização em tubo de quartzo aquecido e geração de vapor químico (CVG QTA AAS).
- Desenvolver um procedimento analítico direto, rápido e automatizado para determinação de cádmio em amostras de águas naturais utilizando sistema de injeção em fluxo com multiseringas acoplado à espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (MSFIA-CV AAS).
- Explorar os seguintes temas:
 - Uso da geração de vapor químico como estratégia alternativa de introdução de amostra;
 - Emprego de estratégias de otimização multivariada com o intuito de auxiliar a elucidação e o estudo da geração de vapor químico dos metais investigados empregando sais de tetrahidroborato, além de otimizar as variáveis pertinentes ao sistema;
 - Aplicação de estratégias de preparo de amostras que minimizam o processamento das mesmas, como amostragem em suspensão e acidificações;

➤ Validação dos métodos analíticos propostos através da determinação de uma série de parâmetros que os garantam adequados e confiáveis para o seu propósito, dentro do contexto analítico no qual estão inseridos.

CAPÍTULO I

ESTADO DA ARTE

1.1 O ELEMENTO COBRE

1.1.1 Aspectos gerais e toxicidade

O cobre, elemento químico de símbolo Cu, está situado no grupo 11 da tabela periódica dos elementos e apresenta quatro estados de oxidação: Cu^0 (metálico), Cu^{+1} (íon cuproso), Cu^{+2} (íon cúprico) e Cu^{+3} (íon trivalente), sendo o estado de oxidação (+2) o mais estável. É um metal de aspecto marrom-avermelhado, maleável, bom condutor elétrico e térmico e resistente à corrosão, características estas que determinam sua grande aplicabilidade e importância industrial [3].

O cobre é um elemento amplamente distribuído na natureza, ocorrendo em maiores níveis em rochas, solo, sedimento e água e, em níveis mais baixos, no ar. É encontrado normalmente na forma de sulfetos, cloretos e carbonatos, e de forma mais ocasional no estado elementar. Na atmosfera está presente naturalmente por meio de erupções vulcânicas, de névoas de águas marinhas e dispersões pelos ventos. É empregado na fabricação de fios elétricos, moedas e utensílios de cozinha, em sistemas de distribuição de água (tubulações), em inseticidas e fungicidas, na produção de ligas metálicas, na galvanoplastia, dentre outros usos [4,5].

As fontes naturais de cobre incluem, além das erupções vulcânicas e aerossóis marinhos, a decomposição de vegetações, incêndios naturais de florestas e liberação de poeiras para a atmosfera oriundas de erosões da crosta terrestre, a qual possui naturalmente cobre na sua composição. Já as principais fontes antropogênicas deste metal envolvem as atividades de mineração e fundição, incineração de resíduos, queima de carvão como fonte de energia, emissões veiculares e atividades agrícolas [3-5].

O cobre consiste em um nutriente essencial para todos os organismos vivos, incluindo seres humanos, porém a exposição a níveis excessivos pode resultar em uma série de efeitos adversos à saúde, que inclui danos ao fígado e rins, anemia, náuseas, imunotoxicidade [4,6].

1.1.2 A importância da determinação de cobre em material particulado atmosférico

Liberado na atmosfera na forma de material particulado ou adsorvido a partículas, o cobre normalmente está na forma elementar ou como sulfatos, óxidos ou carbonatos. Uma vez na atmosfera, a sua permanência e distribuição é definida pelas taxas de sedimentação gravitacional, deposição seca e pela ação da chuva, que por sua vez dependem do tamanho da partícula e da velocidade dos ventos [3,5].

A concentração de cobre no ar depende do grau de proximidade de fontes de emissão deste elemento, como regiões que apresentam atividades de fundição, mineração e incineração, e a forma sob a qual o cobre é liberado no ar esta diretamente relacionada a essas fontes. Por exemplo, processos de fundição de cobre, que co-emitem gases SO_x, lançam em grande parte o cobre na forma de sulfato no material particulado. Já processos de combustão liberam para atmosfera cobre sob a forma de óxido, cobre elementar e cobre adsorvido. Cobre associado a partículas grandes (> 10µm) é provavelmente resultado de solos carregados pelo vento e poeira [4].

O material particulado atmosférico que consiste em uma mistura complexa de substâncias orgânicas e inorgânicas, tem entre os seus componentes inorgânicos a fração metálica, a qual exerce efeitos tóxicos sobre o ser humano, em diferentes graus. Muitos elementos, como o Cd, Pb, Cr e inclusive o Cu são amplamente distribuídos em materiais particulados atmosféricos, tornando-os potencialmente tóxicos, sendo que seus níveis de concentração vem aumentando em virtude das crescentes emissões antropogênicas. Dessa forma, a análise de material particulado quanto a esses elementos, incluindo o cobre, é de fundamental importância a fim de avaliar a qualidade do ar e as possíveis implicações à saúde humana [7,8].

O sistema respiratório é a principal via de entrada das partículas em suspensão, sendo que os efeitos tóxicos associados a esta inalação dependem da composição química, do tamanho das partículas, da concentração das espécies, da exposição humana total e das condições de saúde de cada organismo [8]. Em relação ao cobre, o mesmo apresenta-se irritante para o trato respiratório, sendo a tosse, espirros, corrimento nasal e fibrose pulmonar

sintomas relatados e constatados por trabalhadores expostos a poeira de cobre [4].

Até o presente momento, as legislações vigentes que estabelecem critérios e padrões de qualidade do ar, não incluem o cobre entre os parâmetros de avaliação, desta forma o mesmo não apresenta valores de limites máximos permissíveis na atmosfera. Normalmente, os parâmetros considerados e que possuem limites são: dióxido de enxofre, dióxido de nitrogênio, partículas em suspensão, chumbo, monóxido de carbono.

Por outro lado, diversas agências regulamentadoras internacionais estabelecem limites de exposição ocupacional para o cobre. Por exemplo, a Administração de segurança e saúde ocupacional (OSHA) [9] dos Estados Unidos da América estabelece como limites de exposição permissíveis (PEL) o valor de $0,1 \text{ mg m}^{-3}$ para fumos de cobre e 1 mg m^{-3} para poeiras e névoas de cobre, em média por um turno de 8 horas.

Já a Conferência Americana de Higienistas Industriais Governamentais (ACGIH) [10] dos EUA, recomenda como valor limite (TLV) de exposição do trabalhador ao fumo de cobre para que não haja efeitos diversos à saúde, a concentração de $0,2 \text{ mg m}^{-3}$, com base em 8 horas diárias de trabalho.

O Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH) [11], dos EUA, estabelece como concentração de cobre imediatamente perigosa à vida ou à saúde (IDLH) o valor de 100 mg m^{-3} , tanto para a exposição a fumos, poeiras e névoas de cobre.

Recentemente, verifica-se o interesse em determinar a composição elementar do material particulado atmosférico, a fim de avaliar a qualidade do ar e o impacto antrópico sobre certas regiões ao longo dos anos. Em 2013, Mendonça [12] estudou as espécies metálicas associadas ao material particulado atmosférico da Estação da Lapa - Salvador, Bahia. As concentrações de cobre variaram entre 15 a 184 ng m^{-3} em 2005 e 56 a 263 ng m^{-3} em 2010, evidenciando uma razão de aumento de quase 4. O cobre está entre os elementos traçadores de emissões veiculares, sendo o mesmo empregado em óleos lubrificantes, pastilha e lonas de freios e na fabricação de pneus.

Também em 2013, De Almeida et al. [13] otimizaram um método para a determinação sequencial de cobre e ferro em amostras de material particulado

atmosférico coletadas na cidade de Aracajú, Sergipe. A concentração de cobre no material particulado variou entre 32 a 237 ng m⁻³, apresentando um valor médio de 122 ng m⁻³. De acordo com esses pesquisadores, os valores encontrados foram menores que os determinados no Distrito Industrial de Santa Cruz, no Rio de Janeiro, e próximos aos encontrados no Porto de Aratu, na Bahia, evidenciando que as concentrações refletem as atividades ao redor da área de amostragem.

1.2 O ELEMENTO CÁDMIO

1.2.1 Aspectos gerais e toxicidade

Cádmio, elemento químico de símbolo Cd, situado no grupo 12 da classificação periódica dos elementos, apresenta-se no estado sólido à temperatura ambiente. É um metal de aspecto branco prateado com propriedades de ductilidade e maleabilidade, encontrado geralmente na crosta terrestre associado a minérios de zinco, chumbo e cobre [14].

O cádmio, suas ligas e seus compostos são empregados em uma gama de materiais industriais e de consumo. A maior aplicação do cádmio é na fabricação de baterias, a qual representa aproximadamente 83% do seu consumo. Na forma iônica o cádmio é utilizado principalmente como pigmento, como, por exemplo, o sulfeto de cádmio (CdS), que a depender do tamanho de suas partículas gera diferentes tonalidade do pigmento amarelo. O cádmio também é utilizado em revestimentos, estabilizantes para plásticos, ligas metálicas não ferrosas e dispositivos fotovoltaicos [14,15].

Dentre as fontes naturais deste metal, têm-se as rochas sedimentares e fosfáticas, liberação de vapores do oceano e as atividades vulcânicas. Já as principais fontes antrópicas estão associadas a mineração, atividades industriais, queima de combustíveis fósseis, incineração de resíduos, vazamento de aterros e uso de fertilizantes, pesticidas, inseticidas e lodo de esgoto na agricultura [18,16].

O cádmio vem sendo alvo de intenso estudos ambientais em virtude da sua elevada toxicidade e da sua crescente liberação para o meio ambiente por atividades antropogênicas. Este metal tóxico, de significativa preocupação

ambiental e para saúde humana, afeta severamente órgãos reprodutivos, rins, pulmões e fígado e consiste em um agente carcinogênico e teratogênico, ou seja, que causa mal-formação no feto. Além disso, afeta o sistema nervoso central de crianças podendo provocar distúrbios neurológicos tais como dificuldade de aprendizagem e hiperatividade [17,18].

1.2.2 A importância da determinação de cádmio em águas naturais

As atividades antropogênicas contribuem, tanto de forma direta quanto indireta, na inserção descontrolada de cádmio em ambientes aquáticos, como mares, rios e águas subterrâneas. Isso consiste em um grave problema, uma vez que a contaminação destes ambientes constitui grande risco a saúde humana, aos organismos vivos e ao ecossistema natural, não só devido a toxicidade deste elemento, como também às suas características de persistência e bioacumulação [19].

Entre as atividades antropogênicas que liberam cádmio no ambiente aquático, as que mais se destacam são a mineração e a fundição de metais não-ferrosos. Os aquíferos podem ser contaminados por cádmio através da entrada de água de dragagem das minas, excesso de bacias de rejeito, águas residuais e escoamento de águas pluviais das áreas das minas. Outras fontes humanas incluem o procedimento de galvanização e o uso de fertilizantes fosfatados, o qual apresenta em sua composição teores consideráveis de cádmio. Outra importante fonte de cádmio para os sistemas aquáticos é o despejo de águas residuais de diversos setores em corpos d'água e a precipitação atmosférica do mesmo [14].

Em corpos de água doce, o cádmio normalmente está presente na forma de cádmio (+2), hidróxido de cádmio e complexos de carbonato de cádmio. Quando essas águas apresentam alto teor de matéria orgânica, grande parte do cádmio está na forma de complexos orgânicos. Em ambientes marinhos e costeiros, este metal encontra-se quase completamente na forma de espécies de cloreto [16]. As formas solúveis de cádmio são facilmente transportadas pela água e o seu acúmulo em plantas e organismos aquáticos introduz o mesmo na cadeia alimentar. Já as formas insolúveis de cádmio não apresentam mobilidade e tendem a depositar e adsorver em sedimentos [14].

Em virtude de tudo que foi relatado, agências regulamentadoras e governos estabelecem um controle rigoroso da concentração de cádmio em sistemas aquáticos naturais, através de normas e limites de tolerância.

O Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) [20] através da resolução Nº 357 de 17 de março de 2005, estabelece como limite máximo de Cd em águas salinas e salobras a concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$, quando essas estão destinadas à recreação de contato primário, à aquicultura e às atividades de pesca.

A Portaria Nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011 [21] do Ministério da Saúde do Brasil estabelece que as água subterrâneas destinadas ao consumo humano, a qual define como uma solução alternativa de abastecimento de água, deverão atender aos padrões de potabilidade estabelecidos pela legislação sanitária. Para o cádmio o valor máximo permitido para que a água atenda ao padrão de potabilidade é de $5 \mu\text{g L}^{-1}$.

De acordo com a organização mundial de saúde (WHO) a concentração de cádmio em água potável deve ser menor que $3 \mu\text{g L}^{-1}$, para que a mesma atenda aos padrões de qualidade [22].

A Agência de Proteção Ambiental (EPA) [23] define os critérios de qualidade da água para a proteção da vida aquática e da saúde humana, estipulando valores máximos admissíveis para este elemento em águas doce e salgada (Tabela 1).

Tabela 1 - Limites máximos admissíveis de cádmio em águas doce e salgada segundo os critérios de qualidade da água da EPA publicado em 2001

Poluente	Água doce		Água Salgada	
	CMC* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CCC** ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CMC* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CCC** ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cádmio	2	0,25	40	8,8

* CMC - Critério de Concentração Máxima que consiste em uma estimativa da concentração mais elevada de uma substância em água que a comunidade aquática pode ser exposta brevemente sem resultar em efeitos inaceitáveis.

** CCC - Critério de Concentração Contínua que consiste em uma estimativa da maior concentração de uma substância que a comunidade aquática poder ser exposta por tempo indeterminado sem resultar em efeitos inaceitáveis

De acordo com o regulamento S.I No. 9 de 2010 [24] estabelecido pela Comunidade Européia no que concerne a regulamentos ambientais, o valor limite para cádmio em água subterrânea para que a mesma se enquadre dentro dos padrões de qualidade é de $3,75 \mu\text{g L}^{-1}$.

A Diretiva (2013/39/UE) do Parlamento Europeu e do Conselho [25], identifica cádmio e seus compostos como substâncias perigosas prioritárias e definem concentrações máximas admissíveis para estes em águas superficiais, de acordo com as classes de dureza da água (Tabela 2).

Tabela 2 - Concentração máxima admissível para cádmio de acordo com as classes das águas superficiais segundo Diretiva (2013/39/UE) do Parlamento Europeu.

Concentração máxima admissível para cádmio em águas superficiais					
Classe *	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4	Classe 5
[Cd] $\mu\text{g L}^{-1}$	$\leq 0,45$	0,45	0,6	0,9	1,5

*Classes: classe 1: $[\text{CaCO}_3] < 40 \text{ mg/L}$, classe 2: $[\text{CaCO}_3]$ de 40 a $< 50 \text{ mg/L}$, classe 3: $[\text{CaCO}_3]$ de 50 a $< 100 \text{ mg/L}$, classe 4: $[\text{CaCO}_3]$ de 100 a $< 200 \text{ mg/L}$, e classe 5: $[\text{CaCO}_3] \geq 200 \text{ mg/L}$.

De acordo com os critérios genéricos para solos e águas subterrâneas adotados pelo Governo de Québec (Canadá) [26], o valor máximo permitido para cádmio em águas subterrâneas é de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ para que as mesmas sejam consideradas potáveis, quando outros parâmetros atendem aos limites máximos permitidos.

O Conselho Canadense de Ministros do Meio Ambiente (CCME) [27], estabelece como diretrizes para qualidade da água para a proteção da vida aquática os dados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Diretrizes para qualidade da água para proteção da vida aquática quanto as concentrações de cádmio estabelecidas pelo CCME em 2014.

Poluente	Água doce		Água Salgada	
	Longo prazo	Curto Prazo	Longo prazo	Curto prazo
Cádmio	1 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,09 $\mu\text{g L}^{-1}$	-	0,12 $\mu\text{g L}^{-1}$

Diante do exposto, verifica-se o interesse em desenvolver métodos sensíveis e exatos para monitorar rigorosamente as concentrações de cádmio, a níveis de traço e ultra-traço, em amostras de águas naturais.

Trujillo et al. [28] desenvolveram um método baseado em extração em fase sólida para a determinação de traços de metais em águas naturais empregando FI-ICP-MS. Limite de quantificação de 0,004 $\mu\text{g L}^{-1}$ foi alcançado para cádmio e 40 amostras de água do mar coletadas na Baía de Málaga (Espanha) foram analisadas, a fim de realizar um estudo para obter informações preliminares para uma detalhada investigação a respeito da poluição da Baía, por metais. As concentrações de Cd variaram entre 0 a 0,71 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Xu et al. [29] desenvolveram um método para determinação de traços de cádmio em amostras de águas naturais empregando sistema de injeção sequencial para pré-concentração em linha e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica. Um limite de detecção de 0,5 ng L^{-1} e uma precisão de 2,1 % (RSD) foram obtidos. As concentrações de Cd determinadas nas amostras de água foram: $44 \pm 1 \text{ ng L}^{-1}$ para água do mar; $6,9 \pm 0,6 \text{ ng L}^{-1}$ para água potável e $6,4 \pm 0,6 \text{ ng L}^{-1}$ para água mineral.

Riondato et al. [30] determinaram, além de outros elementos, cádmio em amostras de água intersticial empregando ICP-MS de alta resolução, e alcançaram um limite de detecção equivalente a 2 ng L^{-1} para cádmio. Onze amostras foram analisadas, cujas concentrações de cádmio variaram entre 40 a 290 ng L^{-1} .

1.3 GERAÇÃO DE VAPOR QUÍMICO EMPREGANDO TETRAHIDROBORATO

Na técnica de geração de vapor químico (CVG), o analito é separado da matriz pela geração de espécies gasosas, como resultado de uma derivatização química. Esta técnica vem sendo abordada como uma excelente alternativa de introdução de amostra em determinações espectrométricas, uma vez que separa o analito da matriz, aumenta a eficiência de transporte do analito em relação aos nebulizadores comumente empregados para introdução de amostra, melhora a sensibilidade e o limite de detecção, são passíveis de automatização e apresentam potencial para análise de especificação [1].

A geração de vapor químico acoplada a espectrometria para a determinação de elementos traço se difundiu rapidamente em virtude das vantagens mencionadas anteriormente, da sua inerente simplicidade e por englobar processos rápidos de derivatização com sais de tetrahidroborato (THB) com excelente reprodutibilidade. Em particular, a popularidade da técnica cresceu em virtude desses sais, os quais são base da maioria dos métodos analíticos desenvolvidos com geração de vapor químico [2].

Dentre as técnicas de geração de vapor químico, a mais bem estabelecida e explorada, é a conversão de íons do analito à vapor atômico ou à espécies de hidretos voláteis. A geração de vapor frio (CV) utilizando THB como redutor é bastante difundida para a determinação de traços e até ultra-traços de mercúrio e cádmio. Nesta técnica, o elemento é reduzido a átomos livres no estado gasoso à temperatura ambiente, sem a necessidade do emprego de um atomizador. Já a geração de hidretos (HG) por derivatização com THB se destaca pela ampla aplicação à diversos analitos. A mesma consiste na geração de hidretos voláteis à temperatura ambiente após reação de THB com um determinado elemento em meio ácido. Em geral, esta técnica engloba os elementos: arsênio, bismuto, germânio, chumbo, antimônio, selênio, telúrio e estanho, os quais nessas condições formam hidretos covalentes estáveis [31, 32].

Recentemente, muitos pesquisadores vêm buscando aplicar os princípios da técnica de geração de hidretos a outros elementos, como os metais nobres e de transição. Reagindo alguns desses metais com THB em meio ácido,

espécies voláteis também são geradas, porém o conhecimento a respeito do mecanismo e a identificação dessas espécies ainda são limitados, uma vez que a reação é complexa e os derivados voláteis desses metais apresentam alta instabilidade. Muitas hipóteses têm sido propostas a respeito da natureza da espécie formada a partir da reação do metal com THB, tais como: hidretos, átomos livres ou nanopartículas presentes nas fase gasosa [32,33]. Dessa forma, em virtude da não identificação exata dessas espécies voláteis dos metais nobres e de transição, é mais adequado empregar a terminologia geração de vapor químico para esses elementos ao invés de geração de hidretos [31].

Nos últimos anos tem sido relatado por muitos pesquisadores o emprego de THB na geração de espécies voláteis de metais nobres e de transição, como o cádmio [34,35,36], cobre [34,35,36,37], cobalto [35,36], ferro [38], manganês [38], níquel [35,36], ouro [34,36], prata [34,35,36] e zinco [34,35,36], demonstrando, assim, a extensão da aplicabilidade da técnica, geração de vapor químico, para diversos metais.

1.3.1 A técnica de geração de hidretos

A geração de hidretos, como técnica, foi inicialmente investigada para o elemento químico arsênio, e o fato de outros elementos também formarem hidretos covalentes voláteis, possibilitou que sua aplicação fosse expandida para os elementos do grupo 14, 15 e 16 da tabela periódica. No início da década de 50, a técnica foi empregada para a determinação de arsênio e alguns outros elementos formadores de hidretos utilizando métodos colorimétricos, nos quais o hidreto gerado por adição de zinco metálico formava complexos coloridos com molibdato de amônio ou sulfato de hidrazina [39]. O marco inicial da utilização da geração hidretos com a espectrometria de absorção atômica foi em 1969 por Holak [40], o qual determinou As através da geração de arsina (AsH_3), após adição de zinco metálico a uma amostra acidificada com ácido clorídrico.

O emprego de metais como o zinco, alumínio e magnésio foi o marco inicial da geração de hidretos, porém os mesmos em meio ácido levavam a

formação de apenas poucos hidretos voláteis, tais como: a arsina (AsH_3), seleneto de hidrogênio (SeH_2) e a estibina (SbH_3), restringindo, dessa forma, a aplicação da técnica. Além disso, o emprego de metais apresentava desvantagens relacionadas a problemas de repetibilidade e altos valores de brancos devido à dificuldade em se obter metais granulados com alta pureza [39,41].

Em 1972, Braman et al. [42] apresentaram uma nova abordagem para geração de hidretos ao empregarem soluções de tetrahidroborato de sódio (NaBH_4), estabilizadas em meio alcalino, para a geração de hidreto de arsênio e antimônio. A partir dessa data, o sistema metal/ácido empregado para geração de hidretos foi progressivamente substituído pelo sistema NaBH_4 /ácido, por o mesmo permitir a expansão da aplicabilidade da técnica a outros metais. Com o emprego do THB o número de elementos determináveis por geração de hidretos aumentou, passando a incluir: Bi, Ge, Pb, Sn e Te, além dos anteriormente mencionados: As, Se e Sb [33].

A descoberta e expansão da técnica de geração de hidretos vem permitindo o desenvolvimento de métodos para a determinação de vários e importantes elementos traço que têm problemas específicos quando determinados por técnicas convencionais. A transformação do analito em seu hidreto volátil permite a separação do analito da matriz resultando na eliminação ou redução de interferências espectrais e, embora a eficiência de transporte do analito dependa do rendimento da reação e do transporte do vapor químico ao atomizador, essa técnica consiste em um eficiente sistema de introdução do analito [1,41].

A técnica de geração de hidretos apresenta uma série de vantagens associadas a ela, porém, para alcançá-las, algumas limitações necessitam ser superadas, tais como: interferências causadas por concomitantes presentes na solução de leitura; variação da cinética de geração de vapor provocada por fatores físicos associados à solução; influência do estado de oxidação para alguns elementos; interferências na fase gasosa; e o efeito do pH e das concentrações dos reagentes, que podem ser críticos para alguns elementos. Assim, as condições experimentais e interferências devem ser estudadas e

avaliadas para cada elemento a fim de gerar hidretos voláteis sem grandes limitações e desfrutar das vantagens inerentes à técnica.

1.3.2 Geração de hidretos e espectrometria atômica

Em sua quase totalidade, os métodos desenvolvidos para a determinação de elementos traço baseados na conversão do elemento a seu hidreto volátil empregam a espectrometria atômica nas suas mais variadas configurações: absorção, emissão e fluorescência. Essas determinações espectrométricas atômicas empregando geração de hidretos costumam ser organizadas em três partes, as quais são: a geração do hidreto (reação química), transporte do hidreto para a célula de atomização e a atomização.

1.3.2.1 Geração e transporte do hidreto

No que concerne à reação química de geração do hidreto volátil alguns reagentes já foram e estão sendo amplamente empregados, como a combinação metal/ácido e THB/ácido, respectivamente. Dessas combinações, a pioneira metal/ácido faz uso normalmente do metal em pó ou em suspensão em meio ácido para gerar hidreto do elemento de interesse. Dentre os metais, os já empregados para tal finalidade foram: o zinco metálico, o alumínio em suspensão e o magnésio com cloreto de titânio, os quais em meio de ácido clorídrico produzem hidrogênio atômico também conhecido como “hidrogênio nascente” (Equação 1), que por sua vez é responsável pela derivatização do analito ao hidreto correspondente, segundo a Equação 2 [43].



Onde, 'A' é o analito de interesse, 'm' o estado de oxidação do analito e 'n' o número de coordenação do hidreto. A depender do analito, 'm' é igual ou maior que 'n'.

Em relação ao sistema NaBH₄/ácido, atualmente mais explorado e empregado na geração de hidretos voláteis para análises químicas, algumas hipóteses referentes aos modelos de reação foram propostas. A primeira proposta do mecanismo de geração de hidreto foi feita em 1979 por Robbins e Caruso [44]. Esta hipótese é conhecida como “hidrogênio nascente” e considera que a espécie ativa no processo de derivatização para a geração do hidreto volátil, é o hidrogênio atômico formado durante a hidrólise ácida do tetrahidroborato, a qual pode ser representada de forma simplificada pela Equação 3, do ponto de vista global e estequiométrico sem envolver o mecanismo complexo e a cinética de reação [2,45].

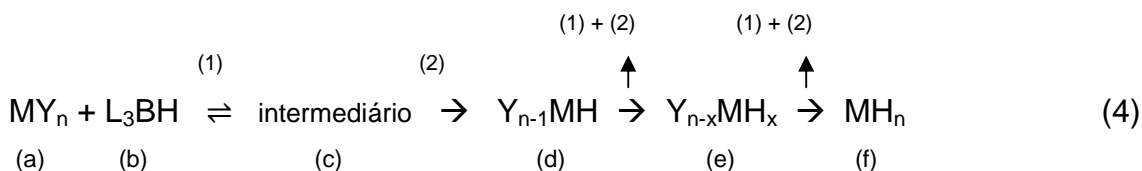


Após a formação do “hidrogênio nascente”, de acordo com a hipótese, há a derivatização do elemento para o hidreto equivalente, conforme representado pela Equação 2. O hidrogênio atômico em excesso, que não reagiu, forma hidrogênio molecular, que é um dos produtos finais da hidrólise ácida do THB.

Nos últimos anos, estudos vêm apresentando outra hipótese mecanística para a geração de hidreto que vai de encontro ao postulado do “hidrogênio nascente”. De acordo com os trabalhos de D'Ulivo [2,45] e D'Ulivo et al. [33,46,47], o modelo de reação para a geração química de espécies voláteis empregando THB baseia-se na transferência gradual de átomos de hidrogênio do borano para o substrato analito após formação de complexos intermediários analito-borano. Segundo suas investigações e interpretações de trabalhos já reportados na literatura [48,49], que envolvem experimentos de hidrólise do THB em meio aquoso e deuterado, a hipótese do “hidrogênio nascente” deve ser reavaliada, uma vez que a formação de hidrogênio atômico não é viável por hidrólise ácida do THB de acordo com as evidências experimentais obtidas. Concluíram também que as espécies intermediárias formadas durante a reação

de hidrólise do THB são hidrogênio molecular e espécies de hidroboro ($L_xBH_{4-x}^n$), onde 'L' são espécies doadoras, 'x' equivale 1, 2 ou 3 e 'n' é a carga do hidroboro. Tais hidroboros constituem espécies eficazes para a geração dos hidretos voláteis.

De forma simplificada, a nova proposta de modelo de reação para geração de hidretos empregando THB (Equação 4) consiste na reação (1) do substrato analito (a) com hidroboros (b) resultantes da hidrólise do THB, que leva a formação de um complexo de borano contendo o analito (c). Após a formação do intermediário (c), há a transferência (2) do hidrogênio do boro para o átomo do analito levando a formação de um intermediário do hidreto do elemento de interesse (d), no qual um átomo de hidrogênio substitui um grupo ligante (Y). A espécie (d) passa novamente pelas etapas reacionais (1) e (2) e um novo intermediário do hidreto do analito é formado (e). Nesta sequência, vão ocorrendo novamente as reações até que todos os ligantes inicialmente ligados ao analito sejam substituídos por hidrogênio e levem a formação do hidreto volátil (f) [45,47].



Nesse modelo reacional de geração de hidretos voláteis, os mecanismos fundamentais da hidrólise do THB, assim como da geração do hidreto podem sofrer influências de aditivos e interferentes presentes na matriz. Esses aditivos quando utilizados, tem como finalidade melhorar a eficiência e seletividade da geração do hidreto do analito de interesse, e são criteriosamente selecionados para cada elemento. Já o interferente presente na matriz afeta a reatividade de forma a prejudicar a análise, e estudos são realizados para minimizar seus efeitos. Todos os componentes do sistema reacional (analito, THB, interferente e aditivo) podem reagir entre si e alterar a cinética e o mecanismo das reações, favorecendo ou desfavorecendo a geração do hidreto volátil a depender do analito de estudo [2,45].

De forma geral, para a geração de hidreto empregando THB é necessário a otimização das condições experimentais envolvendo os fatores que afetam diretamente a geração, como por exemplo: concentração de THB, pH, tipo de ácido, entre outros. Em relação ao THB, o mesmo é usualmente empregado na forma de soluções alcalinas, normalmente de NaOH ou KOH a 0,05 – 2% (m/v), para evitar a sua decomposição e gerar resultados mais eficientes e reprodutivos. A sua concentração varia em várias ordens de grandeza, dependendo criteriosamente do analito e do sistema de geração em si (batelada ou em fluxo) [43]. Além destes fatores, a necessidade do uso de aditivos deve ser usualmente investigada, a fim de se obter condições de gerações de hidreto mais eficientes, seletivas e com controle de interferências. Em resumo, para cada elemento de estudo, condições específicas de geração devem ser estudadas e otimizadas.

Uma vez gerado o hidreto do analito de interesse, o mesmo é transportado para o atomizador com o auxílio do fluxo de um gás inerte, conhecido como gás carreador, e também com o auxílio do gás hidrogênio formado durante a geração do hidreto. Os gases inertes normalmente empregados são o nitrogênio e o argônio. Perdas ou atrasos no transporte do hidreto para o atomizador podem ocorrer devido a sua decomposição ou sorção nas superfícies plásticas ou de vidro. A interação do hidreto com as superfícies que entram em contato é inversamente proporcional ao fluxo do gás carreador e diretamente proporcional a área de contato com as superfícies. Dessa forma, a perda do hidreto formado durante seu transporte para o atomizador é minimizada quando condições experimentais do fluxo do gás carreador, de comprimentos e diâmetros de tubos para transportes e de tamanhos de frascos reacionais são otimizadas [39,43].

Anteriormente, quando se empregava o sistema metal/ácido para a geração de hidretos, as espécies voláteis formadas eram primeiramente coletadas (concentradas) em armadilhas localizadas entre o frasco reacional e o atomizador, para posteriormente serem transportadas. Esse modo de transporte era empregado nesse tipo de sistema devido à baixa velocidade de reação e formação do hidreto. Após o emprego do THB na geração de hidretos, o modo de transporte que passou a ser mais amplamente empregado foi a

transferência direta para o atomizador, uma vez que a reação era cineticamente mais favorável. Sendo assim, o uso do modo de coleta para esse sistema passou a estar correlacionado com procedimentos de pré-concentração. A coleta *in situ*, uma variante do modo de transporte, ganhou destaque e aplicação junto à espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS), ao permitir a coleta/pré-concentração do analito no próprio tubo de grafite e uma atomização livre de interferência [41].

1.3.2.2 Atomização do hidreto

Os atomizadores de hidreto têm como finalidade converter o hidreto do analito a seu átomo livre com o máximo de eficiência. Muitas técnicas de espectrometria atômica são acopladas a geração de hidretos, o que gera uma gama de possibilidades de atomizadores a serem empregados. Dentre as técnicas, a mais amplamente acoplada à geração de hidretos é a Espectrometria de Absorção Atômica (AAS), a qual apresenta como possibilidades de atomizadores: a chama, o tubo de quartzo aquecido externamente, o tubo de quartzo com chama interna (chama em tubo) e o forno de grafite.

Inicialmente em AAS, a chama era o atomizador mais empregado quando se trabalhava com geração de hidretos. Nesse sistema, o hidreto gerado era diretamente introduzido em uma chama de ar-hidrogênio-argônio/nitrogênio (chama de difusão), o que resultava em uma menor sensibilidade devido a diluição do hidreto nos gases da chama e em piores limites de detecção devido a alta absorção de fundo e ruídos [41,43].

A utilização do tubo de quartzo com aquecimento externo realizado por uma chama ou uma manta resistora, consiste no sistema de atomização mais popularmente empregado em AAS com geração de hidretos. O tubo de quartzo apresenta uma configuração em formato de um 'T', onde a parte central é alinhada no caminho óptico e o braço central permite a entrada e o transporte do hidreto e do gás carreador para a parte aquecida do tubo. Esse sistema de atomização apresenta uma série de vantagens, que vão desde a eliminação da

absorção de fundo e de ruídos até o aumento da sensibilidade quando comparadas aos sistemas de atomização em chama [41,43,50].

Quanto aos atomizadores de tubos de quartzo com chama interna, o hidreto do analito é atomizado por uma chama de oxigênio-hidrogênio ou ar-hidrogênio gerada próxima à junção do braço central com a parte principal do tubo. Essa chama interna é suportada pelo hidrogênio em excesso gerado na reação de formação do hidreto e pela introdução do oxigênio/ar na célula de quartzo através de um tubo especial que compõe uma configuração de tubo adequada para este sistema. Esse atomizador de chama em tubo mantém a vantagem mais importante do atomizador de quartzo convencional aquecido externamente, que é a alta sensibilidade, e melhora significativamente as suas desvantagens, como: à baixa resistência a interferências de atomização e a insatisfatória linearidade das curvas de calibração [43,50].

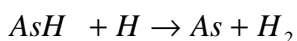
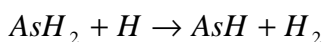
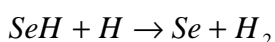
A atomização do hidreto em forno de grafite empregado em GFAAS pode ser dividida em dois tipos: atomização direta, na qual o hidreto é diretamente transportado do frasco reacional para forno de grafite, onde é imediatamente atomizado, e a atomização após captura *in situ* do hidreto no forno. O sistema de atomização direta no forno de grafite apresenta uma menor sensibilidade quando comparado com a atomização após coleta *in situ* e a atomização com tubo de quartzo. Já a grande vantagem da atomização em forno de grafite consiste na baixa influência mútua dos elementos formadores de hidreto em comparação com os atomizadores de tubo de quartzo [39,41].

Em relação às demais técnicas espectroanalíticas, os atomizadores comumente empregados são: a chama na Espectrometria de Fluorescência Atômica (AFS) e o plasma na Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) e na Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS). Para esta última, recentemente foram abordados acoplamentos com vaporizadores eletrotérmicos [51, 52], os quais atomizam o hidreto volátil e o analito formado é transportado para o plasma.

No que concerne ao mecanismo pelo qual se processa a atomização do hidreto volátil algumas abordagens já foram apresentadas. Inicialmente, muitos

defendiam que o processo de atomização se dava pela simples decomposição térmica do hidreto, o que pode ser viável quando elevadas temperaturas de plasma, chama e forno de grafite são empregadas. Porém esse mecanismo é inviável quando se trata de atomizadores de tubos de quartzo aquecido externamente, os quais alcançam temperaturas relativamente baixas (< 1000 °C).

A outra abordagem mecanística é a decomposição do hidreto via interação/colisão do próprio hidreto com radicais livres de hidrogênio, gerados pela reação do hidrogênio com o oxigênio. Estes radicais H são formados na presença de excesso de hidrogênio e interagem com o hidreto de selênio e arsênio, por exemplo, gerando os átomos do elemento da seguinte forma [39,43]:



Em atomizadores de chama em tubo, como a chama empregada é a hidrogênio-oxigênio, a geração dos radicais livres se dá na zona de reação da chama. Já em atomizadores de quartzo com aquecimento externo, o aquecimento do tubo de quartzo tem como função iniciar e manter a reação entre o hidrogênio e o oxigênio. O hidrogênio presente no tubo vem do excesso formado na reação de geração do hidreto e o oxigênio, sob condições analíticas normais, vem do ar dissolvido na solução de medição. Nesse sistema de atomização, a quantidade de oxigênio requerida é muito pequena quando comparada a do hidrogênio e é tão menor quanto maior for a temperatura do atomizador [39,43].

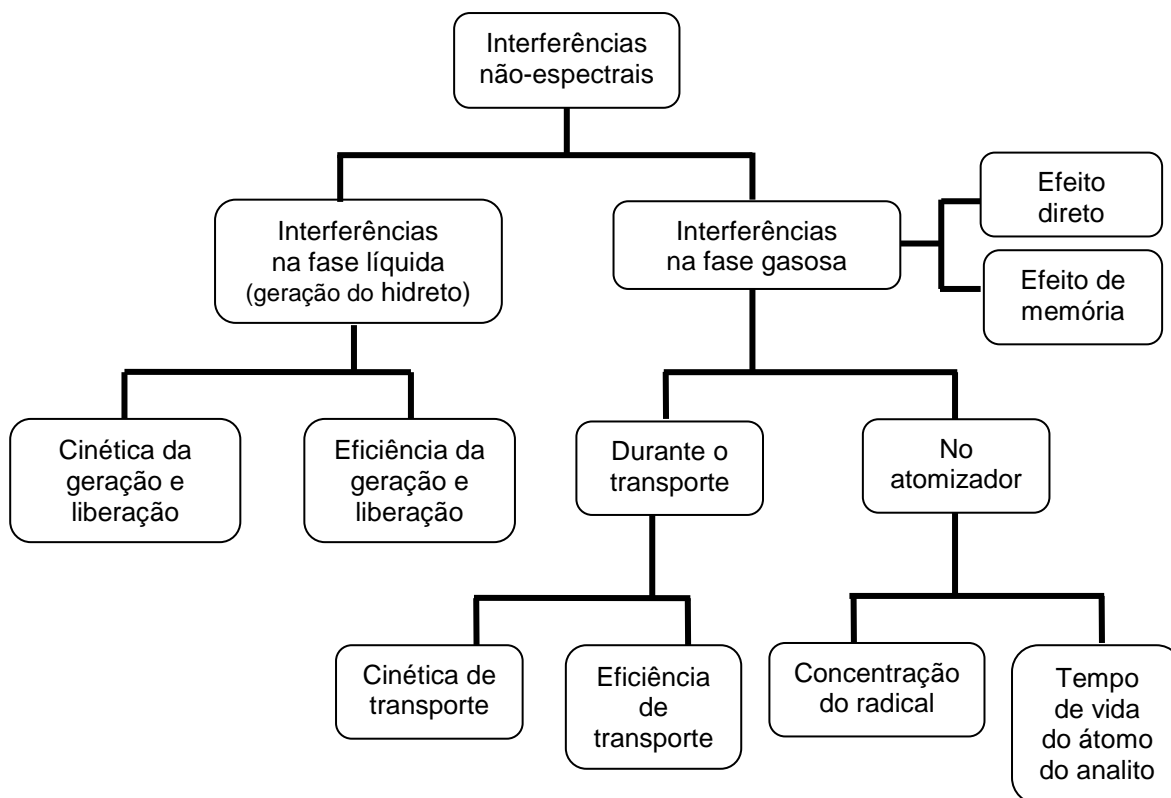
Para atomizadores de forno de grafite os dois mecanismos são abordados. Em temperaturas elevadas a atomização do hidreto é efetiva e independente do fornecimento de hidrogênio e oxigênio ao atomizador, sugerindo que o mecanismo mais provável seja o da decomposição térmica. Já para temperaturas abaixo de 1200 °C, a atomização é efetiva unicamente na presença de hidrogênio e oxigênio, indicando que o mecanismo nessa situação é baseado na interação do hidrogênio radicalar formado com o hidreto do analito [43].

1.3.2.3 Interferências

A separação do analito da matriz e sua introdução no atomizador sob a forma de hidreto gasoso consistem nas principais vantagens da técnica de geração de hidretos, uma vez que aumenta a sensibilidade em relação às técnicas baseadas em sistemas convencionais de introdução de amostra e minimiza problemas de interferências. As interferências espectrais, quando se emprega essa técnica, são praticamente inexistentes e as não-espectrais estão relacionadas as que ocorrem na fase líquida de formação do hidreto e na fase gasosa durante o transporte e atomização do hidreto [39,43].

As interferências não-espectrais, quando se emprega a técnica de geração de hidretos, podem ser classificadas e subclassificadas de acordo com o esquema apresentado pela Figura 1.

Figura 1 - Esquema de classificação de interferências não-espectrais na técnica de geração de hidretos.



Fonte: Adaptada de DEDINA e TSALEV [43] e WELZ e SPERLING [39]

As interferências na fase líquida são causadas por espécies interferentes presentes nessa fase que podem provocar a variação da taxa (cinética) de geração e liberação do hidreto e a diminuição da eficiência de geração e liberação do hidreto da fase líquida [43]. As interferências mais graves e investigadas na fase líquida estão associadas à presença de metais de transição, mais especificamente dos metais nobres, e em seguida a presença de elementos formadores de hidretos nessa fase líquida. A magnitude e efeito dessas interferências são variáveis e dependentes do par analito-interferente e de uma variedade de parâmetros experimentais, que vão desde as condições de reação (tipo e concentração do ácido, concentração de THB e aditivos utilizados), até os aparatos instrumentais empregado na geração do hidreto (batelada, fluxo contínuo e injeção em fluxo) [33].

Os componentes presentes na fase líquida podem interferir na cinética e na eficiência de geração e/ou na liberação do hidreto de diferentes formas. Fortes agentes oxidantes presentes na matriz podem oxidar o analito a seu estado de oxidação mais elevado, os quais não reagem eficientemente com THB, como o Se(VI), ou tem uma velocidade de derivatização mais lenta com THB como o As(V) e o Sb (V). Alguns metais de transição e/ou nobres presentes no frasco reacional podem ser reduzidos, formando um precipitado que por sua vez pode coprecipitar o analito ou adsorver o hidreto formado. Além disso, eles também podem competir com o analito, uma vez que o THB pode ser preferencialmente consumido pelo interferente. Já, alguns componentes orgânicos presentes na fase líquida, dissolvidos ou não, podem provocar interferência na liberação do hidreto gerado [41,43].

Para o controle e até mesmo eliminação dessas interferências na fase líquida, muitas propostas já foram e ainda estão sendo sugeridas e empregadas. Entre elas têm-se: a busca de uma condição que permita o mínimo tempo de residência do hidreto formado na mistura reacional (matriz), o uso de agentes mascarantes, utilização de procedimentos de separação para remover os interferentes inorgânicos e otimização das condições críticas da concentração do ácido e do THB, a fim de obter condições experimentais que permitam maiores razões interferente/analito nas determinações e entre outros [43].

As interferências na fase gasosa são causadas por espécies voláteis produzidas no gerador de hidreto e, em geral, podem ser: de efeito direto, quando efetivamente há a geração simultânea do interferente presente na amostra; ou de efeito de memória, quando as interferências persistem, mesmo cessando a geração do interferente, devido à presença de resíduos de uma determinação anterior. As interferências nessa fase podem ser divididas em dois grupos: interferências de transporte que ocorrem durante a passagem do hidreto do frasco reacional para o atomizador, as quais podem resultar em atraso (cinética de transporte) e/ou perda (eficiência de transporte) do hidreto durante o transporte; e interferências no atomizador que podem ser causadas por decaimento da concentração dos radicais e/ou por redução do tempo de vida dos átomos do analito no atomizador [39,43].

A natureza e extensão das interferências no atomizador dependem muito da unidade de atomização empregada. Em geral, os interferentes presentes no atomizador podem reduzir a população de radicais H de tal forma que sua concentração não é suficiente para atomizar os hidretos do analito em sua totalidade ou podem acelerar o decaimento da concentração de átomos livre do analito no atomizador ao entrar em contato com esses átomos livre gerando outras espécies [43]. As interferências mútuas de elementos formadores de hidreto no atomizador de forno de grafite são inferiores em relação aos atomizadores de tubo de quartzo, e isto pode ser atribuído à diferença de material e a composição da fase gasosa [39]. Algumas maneiras de minimizar estas interferências já foram abordadas, principalmente para atomizadores de tubo de quartzo, as quais consistem em trabalhar com atomizadores pequenos, com maiores vazões de gás carreador e com maior fornecimento de oxigênio [43].

1.3.3 Emprego da geração de vapor químico e técnicas espectroanalíticas na determinação de cobre

A reação entre íons de cobre (II) e THB, que conduz a formação de espécies voláteis de cobre, vem sendo, de forma crescente, utilizada no desenvolvimento de métodos para a determinação de cobre em diversas matrizes.

O primeiro trabalho que demonstrou ser possível expandir a aplicação da técnica de geração de vapor químico ao elemento cobre para fins analíticos foi realizado por Sturgeon et al. [53]. Nesse trabalho, o cobre foi determinado em amostras ambientais por geração de espécies voláteis de improvável natureza atômica, resultantes da mistura de solução de NaBH_4 com amostras acidificadas, à temperatura ambiente. O ICP OES foi empregado como técnica de detecção e foi possível quantificar cobre usando calibração externa com padrões aquosos. Os autores presumiram que espécies de CuH_2 ou CuH são produzidas e também fizeram experimentos que permitiram concluir que o cobre não era transportado ao ICP na forma de aerossol.

Desde então diversos trabalhos baseados na geração de espécies voláteis foram propostos para determinação de cobre, empregando as mais variadas técnicas espectroanalíticas (AAS, AFS, ETAAS, ICP OES, ICP-MS), estratégias de enriquecimento de sinal analítico e acoplamentos com sistemas em fluxo.

Entre os trabalhos mais recentes tem-se o desenvolvido por Zheng et al. [54], que propõe a determinação de traços de cobre através do aprisionamento da espécie volátil no forno de grafite e posterior detecção por absorção atômica. No referido trabalho um sistema de injeção em fluxo foi acoplado ao forno de grafite e a geração de hidreto foi promovida através de uma fina superfície de reação. Os autores, no estudo, assumiram que as espécies voláteis eram hidretos de cobre e que os mesmos pareciam ser instáveis com tendência a decompor-se em complexos metálicos ou nanopartículas em solução.

No que concerne a natureza das espécies voláteis de cobre geradas, a maioria dos trabalhos reportados na literatura sugere que as mesmas são de natureza molecular (hidretos). Em seu trabalho, Xu et al. (2005) [37] sugeriram que a forma das espécies voláteis de Cu é de natureza molecular e não atômica. De acordo com eles, possivelmente CuH_2 ou CuH é formado por analogia com outras novas espécies de hidretos, como MgH_2 e ZnH_2 , já detectadas e caracterizadas estruturalmente.

Em 2000, Luna et al. [34] realizaram uma série de experiências que conjuntamente proporcionaram provas indiretas de que hidretos moleculares voláteis de Ag, Au, Cu e Zn eram formados por derivatização com THB. Realizaram experimentos que evidenciaram que o elemento não era transportado por formação de aerossol, o qual seria provavelmente resultado de uma reação violenta entre o redutor e amostras ácidas. Além disso, verificaram que o efeito da presença de ar sobre a resposta sugeria que o processo de atomização dos elementos estudados era semelhante ao dos elementos formadores de hidretos convencionais, indicando dessa forma a sua natureza como hidreto molecular.

Em relação aos efeitos de outros elementos na geração de vapor químico de metais e metalóides uma série de abordagens com sucesso estão sendo divulgadas para reduzir interferências na fase líquida ou melhorar a eficiência de geração. Em geral, emprega-se agentes mascarantes ou métodos de separação e pré-concentração. Zheng et al., por outro lado, propuseram a separação rápida da espécie volátil de cobre através de um gerador de película fina para minimizar interferências de metais nobre e de transição e excelentes resultados foram alcançados [54]. Zhang et al. empregaram líquido iônico para enriquecer a geração de vapor químico de cobre, prata e ouro e obtiveram significativas reduções de interferência [55]. Xu e colaboradores adicionaram fluoreto de potássio a 1% (m/v) para reduzir interferências da matriz de ferro, na determinação de cobre em amostras de baixa liga de aço [37].

Na Tabela 4 são apresentados diversos trabalhos propostos na literatura baseados no uso conjunto da geração de vapor químico com técnicas de detecção espectrométricas para a determinação de cobre, com suas respectivas descrições, aplicações e figuras de mérito.

Tabela 4 - Emprego da geração de vapor químico e de técnicas espectroanalíticas para a determinação de cobre em amostras diversas.

Técnica de detecção	Amostra	LD	Precisão (RSD%)	Informação adicional	Ano e referência
ICP OES	Sedimento marinho e hepatopâncreas de lagosta	8 µg L ⁻¹	8,6 - 11,5 %	Geração contínua de vapor. Otimização univariada dos fatores.	(1996) [53]
QTA AAS	-	800 µg L ⁻¹	9 % (10 mg L ⁻¹)	Emprego de sistema FIA e otimização univariada.	(2000) [34]
QTA AAS	CRM de cabelo humano e arroz	1,8 µg L ⁻¹	2,6 % (100 µg L ⁻¹)	Sistema de Injeção em fluxo e uso de o-fenantrolina e HNO ₃ nas soluções das amostras	(2000) [56]
GFAAS	-	2800 µg L ⁻¹	11 % (5 mg L ⁻¹)	Espécies voláteis transportadas para forno de grafite pré-aquecido e previamente tratado com Ir como modificador permanente. Abordagem univariada para alcançar as condições ótimas.	(2002) [57]
ICP OES	CRM's de cabelo humano e aço de baixa liga	0,4 µg L ⁻¹	1,6 % (0,2 mg L ⁻¹)	Emprego de ácido acético no lugar de ácido inorgânicos para aumento da eficiência de geração de vapor químico. Condições de geração de vapor otimizadas usando uma abordagem univariada	(2005) [37]
ICP-MS*	CRM's de água, cabelo humano, folhas cítricas e folhas de arbustos	0,198 µg L ⁻¹ (⁶³ Cu)	0,4 - 12 %	Modo dual de introdução de amostra: vapor químico gerado pela reação com NaBH ₄ e aerossol a partir do nebulizador. Aplicação de otimização multivariada.	(2006) [58]

Tabela 4 - Continuação

Técnica de detecção	Amostra	LD	Precisão (RSD%)	Informação adicional	Ano e referência
ICP OES*	-	3,1 µg L ⁻¹ (324.752 nm) 4,2 µg L ⁻¹ (327.393 nm)	3,1 % (0,3 mg L ⁻¹)	Uso de cobalto e 8-hidroxiquinolina para enriquecimento de sinal. Otimização multivariada dos parâmetros.	2007 [59]
AFS	CRM's de folhas de álamo e fígado bovino	4 µg L ⁻¹	2,5 % (500 µg L ⁻¹)	Emprego de fluxo intermitente e dois separadores gás líquido. Uso de o-fenantrolina para fins de enriquecimento do sinal e aplicação de metodologia univariada para otimização dos fatores.	2008 [60]
AFS	CRM's de chá e folha de pêssego	19 µg L ⁻¹	4,4 % (50 µg L ⁻¹)	Sistema de injeção em fluxo e uso de líquido iônico para melhorar a eficiência de geração de vapor químico e reduzir interferências. Otimização univariada dos fatores.	2008 [55]
GFAAS	CRM's de águas naturais e tecidos biológicos	0,1 µg L ⁻¹	4 % (1 µg L ⁻¹)	Sistema de injeção em fluxo acoplado ao forno de grafite para coleta <i>in situ</i> do hidreto de cobre formado e subsequente detecção por AAS. Meio reacional: ácido fórmico e o-fenantrolina. Aplicação de otimização univariada.	2010 [54]
QTA AAS	Material particulado atmosférico	0,30 µg L ⁻¹	4,6 % (5 µg L ⁻¹) 2,8% (50 µg L ⁻¹)	Sistema em batelada. Uso da sulfanilamida para fins de enriquecimento de sinal e álcool isoamílico como antiespumante. Emprego de metodologia de otimização multivariada e amostragem em suspensão	2014** [61]

* Trabalhos desenvolvidos para determinação multielementar simultânea, nos quais o cobre foi explorado.

**Artigo publicado referente ao trabalho de cobre desenvolvido e relatado na presente Tese.

1.3.4 Geração de vapor frio e espectrometria atômica

Entre as técnicas geração de vapor químico, a geração de vapor frio utilizando THB como redutor é atualmente bastante difundida para a determinação de traços de mercúrio e, inclusive cádmio, em uma variedade de matrizes, que vão desde águas naturais até amostras biológicas.

A técnica de geração de vapor frio é baseado na redução química de íons do analito à sua forma elementar empregando geralmente NaBH_4 como redutor. O analito na forma elementar é transportado da solução, com auxílio de um gás inerte carreador, para uma célula onde são feitas as medidas analíticas. A técnica de geração de vapor frio combinada com a AAS foi primeiramente explorada para o elemento mercúrio por Poluektov et al. [62,63] e Hatch e Ott [64]. Já a determinação de cádmio empregando a técnica de vapor frio foi a princípio descrita por Sanz-Medel et al. [65,66], os quais empregando tetrahidroborato de sódio e meio aquoso vesicular concluíram que havia formação de hidretos de cádmio e que por serem instáveis eram decompostos a cádmio atômico, permitindo assim medidas por absorção atômica.

O sistema de geração de vapor frio é basicamente semelhante ao sistema de geração de hidretos, apresentando duas etapas comuns; a geração de vapor atômico (reação química) e transporte para o sistema de detecção. Como os elementos são convertidos a átomos livres à temperatura ambiente, não é necessário unidades de atomização, ou seja, a etapa de atomização comumente empregada em espectrometria atômica não faz parte desse sistema [39,67].

No que concerne a reação de geração de vapor de cádmio utilizando NaBH_4 como agente redutor, diferentes hipóteses de mecanismos foram colocadas em discussão.

Em 1995, Sanz-Medel et al. [65] investigou o mecanismo de transporte e a natureza das espécies voláteis de cádmio na célula de absorção, empregando NaBH_4 como redutor e meios reacionais vesiculares. No trabalho, concluíram que o mecanismo de geração de espécies voláteis de Cd (hidreto volátil) ocorreria de acordo com a hipótese do hidrogênio nascente. Porém, à temperatura ambiente, o hidreto formado era decomposto a cádmio atômico, de

acordo com a Equação 7, o que permitia medidas por AAS, sem a necessidade do emprego de uma unidade de atomização.



Em resumo, segundo os investigadores, as espécies geradas e transportadas para o sistema de detecção eram provavelmente hidretos de cádmio, que, uma vez, na célula de absorção eram decompostos a Cd atômico, através de fotodecomposição induzida pela luz de excitação.

Em 2003, Feng et al. [68] defenderam que evidências revelavam que o produto inicial da reação, empregando NaBH_4 como redutor, parecia ser cádmio atômico, o qual por sua vez interagia com hidrogênio nascente produzindo a espécie molecular, hidreto de cádmio. Essa hipótese também levava em consideração a formação do hidrogênio nascente por meio da hidrólise ácida do tetrahidroborato, o qual era responsável pelas duas etapas subsequentes que levariam a formação de átomos livres e hidretos de cádmio, como pode ser descrito pelos esquemas de reação (8 e 9).



Em síntese, os esquemas representam os dois passos do mecanismo de geração proposto. A reação representada pela Equação 9 ocorreria na superfície e seria mediada pela sua composição química, a qual os produtos da Equação 8 estariam expostos. No caso em questão, grupos funcionais de enxofre presentes na superfície poderiam reagir com o cádmio atômico formado, impedindo assim sua fuga para o sistema de detecção, o que levaria a formação de hidretos de cádmio pela Equação 9.

Todas as propostas expostas levam em consideração a hipótese do hidrogênio nascente. No entanto, como já abordado anteriormente no tópico 1.3.2.1 - Geração e transporte do hidreto, investigações mais recentes revelaram a inviabilidade da geração de hidrogênio nascente pela

decomposição ácida do tetraidroborato. Dessa forma, o mecanismo de formação de espécies voláteis de cádmio permanece incerto, sendo assim necessário maiores investigações a fim de elucidar alguns questionamentos envolvidos no tema.

Em relação as interferências, ao empregar NaBH_4 como agente redutor para determinações de metais utilizando CV AAS, as interferências espectrais são praticamente inexistentes, uma vez que há uma separação eficiente do analito da matriz. As interferências existentes ao aplicar essa técnica são semelhantes às envolvidas na técnica de geração de hidretos, ou seja, estão mais relacionadas às que ocorrem na fase condensada, onde é formado o vapor frio, e na fase gasosa. Em resumo, as interferências na fase líquida envolvem os processos de formação da espécie atômica e sua liberação para a fase gasosa e as interferências na fase gasosa podem envolver o volume morto do frasco reacional, o transporte do analito e a célula de absorção [41,43].

Muitos trabalhos na literatura têm reportado os íons de Pb, Cu, Ni, Zn, Au, Bi, Mo e Zn como os principais interferentes na determinação de Cd empregando geração de vapor. Porém, o efeito de interferência causado por esses íons varia de acordo com os meios reacionais e com as configurações experimentais envolvidas. Emprego de agentes mascarantes no meio racional e sistemas de separação e pré-concentração são alternativas exploradas a fim de reduzir ou até eliminar essas interferências na fase líquida.

Garrido et al. [69] desenvolveram um método para determinação de Cd em águas residuais e lodo de esgoto por FI-CV AAS. Eliminaram completamente interferências provenientes de Cu, Pb, Ni e Zn adicionando KCN no meio reacional. Por outro lado, Vargas-Razo e Tyson [70] relataram a capacidade de tiouréia juntamente com Ni reduzir interferência de alguns íons coexistentes na amostra, além dos mesmos em conjunto apresentarem efeito catalítico na reação de geração de vapor de Cd, isso quando o Ni era usado em concentrações inferiores a $0,01 \text{ mg L}^{-1}$.

Manzoori et al. [71] empregaram extração em ponto nuvem para separar e pré-concentrar cádmio em amostras de águas naturais para posterior detecção por CV AAS. Essa combinação permitiu uma determinação de Cd livre de interferências. Dentro do mesmo contexto, Sahan e Sahin [72]

determinaram Cd em amostras de água empregando separação e pré-concentração em fase sólida e CV AAS. Os resultados evidenciaram uma determinação de Cd (II) livre de interferência.

1.3.4.1 Emprego da técnica de geração de vapor frio e espectrometria atômica na determinação de cádmio

O emprego da técnica de geração de vapor frio na determinação de cádmio usando AAS, desde que foi primeiramente descrita em 1995 por Sanz-Medel et al. [65,66], se difundiu largamente e sua exploração vem sendo abordada em vários interessantes artigos, os quais incluem desde estratégias de sistema em fluxo e combinações com procedimento de pré-concentração a propostas de meios reacionais para aumento da eficiência de geração. Alguns trabalhos envolvendo a determinação de cádmio empregando a geração de vapor frio e técnicas de detecção espectrométricas são abordados na Tabela 5. Nesta tabela, os trabalhos que aplicaram metodologia de otimização multivariada são especificados, sendo então os demais, por exclusão, otimizados por abordagem univariada.

Tabela 5 - Métodos analíticos propostos para a determinação de Cd empregando a técnica de geração de vapor frio acoplada a técnicas espectroanalíticas

Técnica de detecção	Amostras	LD	Precisão (RSD %)	Informação adicional	Ano e referência
AAS	Diversos materiais de referência certificados	20 ng L ⁻¹	1,4 % (3 µg L ⁻¹)	Reação em meio aquoso.	1995 [73]
GF AAS	CRM's de água e amostras de água do mar	4 ng L ⁻¹	0,2 - 1,3 %	Sistema de injeção em fluxo. Pré-concentração em tubos de grafite revestido de irídio e emprego de gálio como catalisador para geração de vapor de Cd.	1996 [74]
AAS	Água, urina, sangue, cabelo humano, solos geoquímicos e solos poluídos	30 ng L ⁻¹	2,5 % (5 µg L ⁻¹)	Análise por injeção em fluxo. Emprego de tiouréia para aumento da sensibilidade.	1997 [75]
AAS	Água naturais	150 ng L ⁻¹ (em DDAB) 50 ng L ⁻¹ (meio aquoso)	-	Sistema de injeção em fluxo. Comparação entre dois meios reacionais (vesicular - DDAB e aquoso).	1998 [76]
AAS	Águas residuais e lodo de esgoto	54 ng L ⁻¹	1-4 % (5 µg L ⁻¹)	Injeção em fluxo. Emprego de KCN como agente mascarante para a eliminação de interferências.	1998 [69]
AAS	Amostras ambientais e biológicas	0,2 µg L ⁻¹ (amostra ambiental) 0,6 µg L ⁻¹ (amostra biológica)	6 - 12 %	Análise de amostras em suspensão. Uso de KCN como agente mascarante para análise de amostras ambientais, o que permitiu o uso de calibração externa. Efeito de matriz pronunciado nas amostras biológicas e uso de calibração de adição de padrão.	2000 [77]

Tabela 5 - Continuação

Técnica de detecção	Amostras	LD	Precisão (RSD %)	Informação adicional	Ano e referência
AAS	CRM's de solo de Montana e folha de maçã	16 ng L ⁻¹	3,8 % (0,1 µg L ⁻¹)	Sistema de injeção em fluxo. Adição de tiouréia e níquel nas amostras para reduzir interferência de íons coexistentes.	2000 [70]
AFS*	Folhas de tabaco	2,8 ng L ⁻¹	2,9 % (1 µg L ⁻¹)	Emprego de um reator de fluxo intermitente. Avaliação do uso de metais de transição para aumento da sensibilidade na presença de tiouréia.	2004 [78]
AAS	Folhas de tabaco	21 ng L ⁻¹	3,2 % (10 µg L ⁻¹)	Reação em fase nebulosa com emprego de um nebulizador modificado.	2004 [79]
AAS	Água natural, vinho, saliva humana, suco de laranja, urina humana e cabelo humano	32 ng L ⁻¹ (tiouréia e Co) 37 ng L ⁻¹ (tiouréia)	5 % (0.5 µg L ⁻¹) 2 % (1.0 µg L ⁻¹)	Injeção em fluxo. Emprego de uma forte resina de troca aniônica na forma de tetrahydroborato (III). Otimização univariada dos fatores.	2005 [80]
AAS	Alimentícias	21 ng L ⁻¹	4,1 %	Uso de processamento de sinal derivado. Sistema de fluxo contínuo.	2005 [81]
AAS	CRM's de água natural e tecido de mexilhão	26 ng L ⁻¹	2.5 % (0.5 µg L ⁻¹)	Sistema de introdução de amostra multimodo. Adição de tioureia, cobalto, níquel para superar as interferências.	2005 [82]
AAS	CRM's de água do mar, folha de tomate e tecido de ostra	1,8 ng L ⁻¹	5 %	Sistema de injeção em fluxo. Pré-concentração em linha de cádmio através do uso de armadilha de quartzo. Aplicação de otimização multivariada.	2005 [83]
AAS	CRM's de tecido de ostra, folha de tomate e água o mar	4 ng L ⁻¹	-	Uso de bobina resistivamente aquecida como armadilha on-line para pré-concentração e reatomização de Cd.	2007 [84]

Tabela 5 - Continuação

Técnica de detecção	Amostras	LD	Precisão (RSD %)	Informação adicional	Ano e referência
AAS	Água	0,56 ng L ⁻¹	3,2 % (20 ng L ⁻¹)	Emprego de pré-concentração por extração em ponto nuvem. Sistema de fluxo contínuo.	2007 [71]
AAS	Água e peixe	4,6 ng L ⁻¹	4,1 % (150 ng L ⁻¹)	Emprego de extração em fase sólida e pré-concentração de cádmio. Sistema em batelada para a geração de vapor.	2010 [85]
AAS	Água	2.1 ng L ⁻¹	2.5 % (0.05 µg L ⁻¹)	Pré-concentração em fase sólida on-line.	2012 [72]
AAS	Água do mar e de poço	5,8 ng L ⁻¹	2,88 % (0.25 µg L ⁻¹)	Emprego de sistema de fluxo multicomutado (MSFIA). Uso da tiouréia como reagente quelante com efeito de enriquecimento. Aplicação de otimização multivariada. Leitura direta da amostra acidificada sem etapa de pré-concentração.	2014 **

* Trabalho desenvolvido para determinação multielementar simultânea, no qual o elemento cádmio foi explorado.

** Método (MSFIA-CV AAS) proposto para determinação de cádmio desenvolvido e relatado na presente Tese.

1.4 QUIMIOMETRIA

A quimiometria é um ramo da ciência que aplica métodos matemáticos e estatísticos em química com o intuito de planejar e otimizar experimentos e extrair o máximo de informações químicas relevantes e possíveis do sistema em estudo, através da análise multivariada dos dados.

O ramo da quimiometria, planejamentos e otimização de experimentos tem sua importância destacada, uma vez que permite o desenvolvimento de métodos analíticos capazes de gerar uma série de dados passíveis de tratamentos estatísticos conclusivos. Quando o planejamento não é feito de maneira adequada, usualmente se obtém uma série de números estéreis, através dos quais, mesmo com tratamentos estatísticos, não se pode extrair o máximo de informações e chegar a conclusões efetivas [86].

1.4.1 Planejamento e otimização de experimentos

Os planejamentos multivariados são ferramentas quimiométricas eficientes na realização de triagens de variáveis e no estabelecimento das melhores condições experimentais de um método analítico, visto que proporciona a redução do número de experimentos, e por sua vez do consumo de reagentes e do trabalho de laboratório, possibilita a avaliação da significância do efeito de todas as variáveis estudadas, assim como das interações entre elas e otimiza simultaneamente estas variáveis, gerando um ponto ótimo/crítico global [87,88]. Em virtude do exposto, a otimização baseada em planejamentos multivariados se destaca em relação à otimização univariada, a qual permite apenas a otimização de uma variável por vez, enquanto as demais são fixadas em um valor. Além disso, esse tipo de planejamento não avalia o efeito das interações entre as variáveis, demanda mais tempo e pode gerar otimizações ineficientes ao fornecer melhores condições experimentais sem levar em consideração as interações, quando as mesmas são significativas para o sistema [88].

Nesse ramo da quimiometria alguns termos são comumente empregados. As *respostas* são as variáveis dependentes e correspondem aos valores medidos dos resultados experimentais, os *fatores* são as variáveis independentes a serem investigadas que podem ou não exercer influência sobre o sistema de estudo, os *níveis dos fatores* são os possíveis valores que os fatores podem assumir e o *domínio experimental* é a região de trabalho delimitada por esses níveis, dentro da qual as respostas são investigadas [89].

O primeiro passo da otimização multivariada consiste em realizar uma triagem das variáveis, fixando em um valor coerente as que não são significativas para o sistema em estudo e avaliando os efeitos das que são. Essas informações são de extrema importância para compreender inicialmente o funcionamento do sistema. Uma forma de alcançar esse objetivo consiste em aplicar planejamentos fatoriais fracionários ou planejamentos Plackett-Burman, quando são poucas as informações a respeito do sistema, necessitando então avaliar uma grande quantidade de fatores, ou aplicar planejamentos fatoriais completos, quando se tem informações do sistema e deseja-se avaliar a influência e a significância destes fatores sobre as respostas de interesse. Após avaliar quais fatores e interações são significativas para o sistema químico de estudo, condições ótimas/críticas experimentais são determinadas usando a ferramenta metodologia de superfícies de resposta que consiste em planejamentos experimentais mais complexos baseados na modelagem por mínimos quadrados. Os planejamentos mais conhecidos e empregados em metodologia de superfícies de resposta são: o Box-Behnken, Doehlert e Composto Central [86,88].

1.4.1.1 Planejamento fatorial completo e fracionário

O planejamento fatorial completo e fracionário são os mais populares dos planejamentos de primeira ordem, nos quais os fatores são estudados em dois níveis. São planejamentos simples e práticos que permitem obter informações preliminares sobre o sistema de estudo, ao fornecerem dados que estimam a influência (efeito) dos fatores e das suas interações sobre a resposta de interesse [87].

No planejamento fatorial completo, no qual k fatores são investigados em dois níveis, o número de experimentos a serem realizados é dado pela expressão 2^k . Cada um dos níveis delimita o domínio experimental e são normalmente representados pelos códigos (-) e (+) que indicam nível inferior e superior do fator, respectivamente. Um nível zero (0), também chamado de ponto central, no qual todas as variáveis assumem valores médios dos níveis empregados, pode ser adotado para os fatores, a fim de avaliar a curvatura do conjunto de dados obtidos e estimar o erro experimental do planejamento através das réplicas desse ponto, excluindo dessa forma a necessidade de replicar todos os experimentos do planejamento.

Na tabela 6, são apresentadas as matrizes de planejamento para 2, 3 e 4 fatores, nas quais constam todas as possíveis combinações entre os níveis escolhidos de cada fator. Todos os experimentos previstos por estas matrizes devem ser realizados de maneira aleatória para evitar que erros sistemáticos entrem na avaliação e para impedir que fatores, dos quais não se tem conhecimento, influenciem os resultados, contaminando os efeitos dos fatores que se deseja investigar [86].

Tabela 6 - Matrizes de planejamento fatorial completo para 2, 3 e 4 fatores

Dois fatores (2 ²)			Três fatores (2 ³)			Quatro fatores (2 ⁴)				Respostas		
Nº exper.	Fatores		Nº exper.	Fatores			Nº exper.	Fatores				
	A	B		A	B	C		A	B		C	D
1	+	+	1	+	+	+	1	+	+	+	+	Y ₁
2	+	-	2	+	+	-	2	+	+	+	-	Y ₂
3	-	+	3	+	-	+	3	+	+	-	+	Y ₃
4	-	-	4	+	-	-	4	+	+	-	-	Y ₄
			5	-	+	+	5	+	-	+	+	Y ₅
			6	-	+	-	6	+	-	+	-	Y ₆
			7	-	-	+	7	+	-	-	+	Y ₇
			8	-	-	-	8	+	-	-	-	Y ₈
							9	-	+	+	+	Y ₉
							10	-	+	+	-	Y ₁₀
							11	-	+	-	+	Y ₁₁
							12	-	+	-	-	Y ₁₂
							13	-	-	+	+	Y ₁₃
							14	-	-	+	-	Y ₁₄
							15	-	-	-	+	Y ₁₅
							16	-	-	-	-	Y ₁₆

Realizado o planejamento fatorial completo e de posse dos resultados experimentais, os efeitos principais dos fatores e das interações são calculados através da diferença entre as médias das respostas do nível superior e do nível inferior do planejamento, conforme representado pela Equação 10.

$$Efeito = \frac{\sum yi(+)}{n/2} - \frac{\sum yi(-)}{n/2} \quad (10)$$

Onde, 'n' equivale ao número de experimentos e 'y' as respostas de cada experimento.

A equação 11, exemplifica o cálculo do efeito principal do fator A do planejamento fatorial completo (2^3) que está representado na Tabela 6.

$$Efeito(A) = \frac{(y_1 + y_2 + y_3 + y_4)}{4} - \frac{(y_5 + y_6 + y_7 + y_8)}{4} \quad (11)$$

Os efeitos podem assumir valores positivos ou negativos, indicando que há um aumento ou diminuição da resposta analítica, respectivamente, quando o fator é deslocado do seu nível inferior para o superior do domínio experimental. Em outras palavras, se o efeito de A for negativo, a resposta analítica de interesse diminui à medida que o fator A vai sendo deslocado para assumir valores do seu nível superior (+) [86].

Em relação ao cálculo dos efeitos das interações pode-se também utilizar a equação 10, ao assumir sinais para cada ensaio das interações. Estes sinais são calculados para cada experimento a partir do produto dos sinais dos fatores que originam a interação, como pode ser observado na Tabela 7, a qual apresenta a matriz do planejamento fatorial completo (2^3) e os sinais das interações.

Tabela 7 - Matriz de planejamento fatorial completo (2^3) com os respectivos sinais das interações

Experimento	Fatores			Interações				Respostas
	A	B	C	AB	AC	BC	ABC	
1	+	+	+	+	+	+	+	Y_1
2	+	+	-	+	-	-	-	Y_2
3	+	-	+	-	+	-	-	Y_3
4	+	-	-	-	-	+	+	Y_4
5	-	+	+	-	-	+	-	Y_5
6	-	+	-	-	+	-	+	Y_6
7	-	-	+	+	-	-	+	Y_7
8	-	-	-	+	+	+	-	Y_8

A equação 12, exemplifica o cálculo do efeito da interação entre os fatores A e B do planejamento fatorial completo (2^3) representado na Tabela 7.

$$Efeito(AB) = \frac{(y1 + y2 + y7 + y8)}{4} - \frac{(y3 + y4 + y5 + y6)}{4} \quad (12)$$

Quando os efeitos das interações assumem valores positivos são chamados de efeitos sinérgicos, indicando que o aumento de um fator reforça o outro em estudo. Já os efeitos de interação negativa apresentam um efeito antagônico.

No planejamento fatorial completo (2^k) o número de experimentos aumenta rapidamente com o número de fatores k investigados. Por exemplo, para 7 fatores selecionados, seriam necessários 128 experimentos (2^7), o que é inviável e dispendioso. Para esse tipo de situação, o planejamento fatorial fracionário é ideal, uma vez que possibilita avaliar os 7 fatores usando um número de ensaios bem menor, que corresponde a uma fração do número de ensaios do planejamento fatorial completo, sem que haja perda de informações importantes [86,90].

Esse tipo de planejamento é possível, uma vez que as interações de ordem alta, que aumentam com o número de fatores, têm valores pequenos e não são significativas, excluindo assim a necessidade de realizar todos os ensaios de um planejamento completo para determinar seus valores. Assim, os termos de interação de ordem mais elevada são ignorados e somente os efeitos principais e as interações de ordem dois são avaliados. Além disso, quando o número de fatores é grande, a chance é alta de que um ou mais fatores não afetem significativamente o sistema, seja por meio de seus efeitos principais ou de interação [86,89].

Há vários tipos de planejamento fatorial fracionário, sendo que cada um deles é determinado por uma fração ($1/2$, $1/4$, $1/8$ $1/2^n$). Os planejamentos fracionários mais aplicados são os do tipo fração meia que são compostos por $2^{(k-1)}$ experimentos, onde k é o número de variáveis estudadas. Quando 4 fatores estão sendo investigados, a primeira etapa para a construção deste planejamento $2^{(4-1)}$, é construir um planejamento 2^3 completo para os fatores A, B e C. Posterior a isso é atribuído ao fator D os sinais do produto das colunas dos fatores A, B e C. Como consequência disso, as estimativas dos

contrastes do fator D e da interação ABC terão o mesmo valor, uma vez que são determinados pelos mesmo sinais [86]. Na Tabela 8 é apresentada a matriz do planejamento fatorial fracionário de fração meia.

Tabela 8 - Matriz do planejamento fatorial fracionário de fração meia para 4 fatores

Experimento	A	B	C	D
1 (1)	+	+	+	+
2 (4)	+	+	-	-
3 (6)	+	-	+	-
4 (7)	+	-	-	+
5 (10)	-	+	+	-
6 (11)	-	+	-	+
7 (13)	-	-	+	+
8 (16)	-	-	-	-

Esse planejamento reduz o número de experimentos à metade e emprega 8 ensaios dos 16 existentes no planejamento fatorial completo (2^4) da Tabela 6, os quais estão sendo representados pelos números entre parênteses na Tabela 8.

Para os planejamentos fracionários os efeitos principais e das interações são chamados de contrastes e são calculados da mesma forma que se calcula nos planejamentos fatoriais completos. Nesses planejamentos alguns contrastes podem ser iguais a outros, uma vez que são determinados pelos mesmos sinais. Esse confundimento matemático aumenta, quando se aumenta a fração do planejamento [86,90].

O planejamento Plackett-Burman é um tipo particular de planejamento fatorial fracionário eficiente na avaliação dos efeitos principais quando se trabalha com uma grande quantidade de fatores. Esse planejamento assume que as interações podem ser ignoradas e desse modo, os efeitos principais podem ser estimados com um número reduzido de experimentos [86,91].

Planejamentos experimentais desse tipo apresentam um alto grau de confundimento matemático, gerando o risco de sobrevalorizar alguns fatores, quando seu real efeito se encontra em termos de interação, as quais foram

ignoradas. Assim, esse planejamento apresenta-se útil somente para uma rápida triagem dos fatores, ao distinguir aqueles que têm influência sobre as respostas dos que não tem [91,92].

Nesse planejamento, n experimentos são necessários para estudar até $n-1$ fatores. Normalmente se emprega um total de experimentos múltiplo de 4, como, 8, 12, 20, 24,... para investigar simultaneamente até 7, 11, 19, 23,... fatores, respectivamente [86].

Programas estatísticos simples e práticos de computadores, como o STATISTICA, por exemplo, estão disponíveis para auxiliar no tratamento dos dados e na investigação dos resultados. Através do programa STATISTICA é possível gerar a tabela ANOVA e o gráfico de pareto, os quais fornecem informações que permitem estimar a significância e caracterizar as influências dos efeitos.

1.4.1.2 Metodologia de superfícies de resposta

A metodologia de superfícies de resposta baseia-se na construção de modelos matemáticos simples (em geral, lineares ou quadráticos) obtidos a partir de resultados experimentais, que servem para descrever o sistema de estudo e explorá-lo (modelagem e deslocamento), até a sua otimização [86,90].

As superfícies geradas de modelos lineares são usadas para indicar o sentido em que o planejamento original deve ser deslocado, a fim de atingir as condições ótimas. Já para a determinação das condições ótimas é necessário que o modelo matemático (função polinomial) ajustado aos dados experimentais seja quadrático, conforme apresentado na Equação 13 [89,93].

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{1 \leq i < j \leq k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (13)$$

Onde, y é a resposta experimental, B_0 é o termo independente e constante, k é o número de variáveis, B_i são os coeficientes dos termos lineares, B_{ii} são os coeficientes dos termos quadráticos, B_{ij} são os coeficientes

dos termos de interação, x_i e x_j são as variáveis a serem otimizadas e ε é o erro aleatório da determinação experimental.

Estimam-se os pontos ótimo/crítico das variáveis x através da resolução do sistema de equações obtido ao igualar à primeira derivada do modelo matemático em relação a cada fator, a zero [93]. Se o modelo quadrático para duas variáveis é empregado (Equação 14), o sistema de equação que deve ser resolvido para achar o ponto crítico dessas variáveis é representado pela Equação 15.

$$\hat{y} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (14)$$

$$\frac{\partial(y)}{\partial(x_1)} = b_1 + 2b_{11}x_1 + b_{12}x_2 = 0 \quad (15)$$

$$\frac{\partial(y)}{\partial(x_2)} = b_2 + 2b_{22}x_2 + b_{12}x_1 = 0$$

Os planejamentos mais empregados para ajustar os dados experimentais a um modelo quadrático são os: planejamento Box-Behnken, Doehlert e composto central. A Tabela 9 compara algumas características, como eficiência, nº de coeficientes e de experimentos entre essas Metodologias de superfícies de resposta.

Tabela 9 - Comparação entre as metodologias de superfícies de respostas: Composto central (CC), Doehlert (D) e Box-Behnken (BB).

Fatores	Nº de coeficientes	Número de experimentos			Eficiência		
		CC	D	BB	CC	D	BB
2	6	9	7	-	0,67	0,86	-
3	10	15	13	13	0,67	0,77	0,77
4	15	25	21	25	0,60	0,71	0,60
5	21	43	31	41	0,49	0,68	0,61

Fonte: FERREIRA *et al.*, 2007 [88]

Para certa quantidade de fatores é possível observar que de maneira global o planejamento que necessita de mais experimentos é o Composto Central. Dessa forma, como a eficiência é definida pela razão entre o número de coeficientes no modelo matemático estimado e o número de experimento, esse planejamento é o que apresenta uma eficiência ligeiramente menor [88].

Planejamento Box-Behnken

Nos planejamentos Box-Behnken, os pontos experimentais descrevem hiperesferas, nas quais estes estão equidistantes do seu centro. É empregado para a otimização de três ou mais fatores, sendo que cada um deles é estudado em três níveis (-1, 0 e +1). Esse planejamento requer um número de experimentos equivalente a $N = 2k(k-1) + C$, onde k é o número de fatores e C o número de pontos centrais. Ele não apresenta experimentos em que os fatores estão todos simultaneamente em seu nível mais alto (+) ou mais baixo (-), e em virtude disto eles são úteis quando se deseja evitar experimentos sob condições extremas, os quais podem gerar resultados insatisfatórios [88,94].

Planejamento Doehlert

O planejamento Doehlert descreve um domínio circular para dois fatores, esférico para três e hiperesférico para mais de três fatores. Em geral o número total de experimento é dado por $N = k^2 + k + C$, onde k é o número de fatores e

C o número de réplicas do ponto central. Uma das grandes vantagens deste planejamento consiste no fato de que cada fator é estudado em um número diferente de níveis. Isto permite avaliar as variáveis de acordo com sua importância (influência), sendo que normalmente se emprega uma maior quantidade de níveis para o fator que tem mais efeito sobre o sistema, a fim de obter mais informações. Outra vantagem é a grande mobilidade deste planejamento, que permite deslocar o planejamento para outro domínio experimental aproveitando pontos do planejamento anterior, no qual as fronteiras não foram bem escolhidas para alcançar o valor ótimo [92,93].

Planejamento Composto Central

O planejamento Composto Central combina planejamentos fatoriais completos ou fracionários com um planejamento estrela, cujos pontos experimentais estão a uma distância α do centro, e um ponto no centro da região experimental de todos os planejamentos. Neste planejamento todos os fatores são estudados em cinco níveis ($-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$), salvo quando o valor de α é igual a 1. O número de experimentos necessários para o desenvolvimento desse planejamento é dado por $N = 2^k + 2k + C$, onde k é o número de variáveis e C é o número de pontos centrais [87,93].

1.4.2 Aplicações de ferramentas quimiométricas no estudo da geração de vapor químico de cobre e cádmio empregando sais de tetrahidroborato

O planejamento e otimização de experimentos apresenta-se como ferramenta útil e eficiente na elucidação e estudo da geração de vapor químico empregando THB para a determinação de metais em uma variedade de matrizes. A avaliação simultânea da significância dos efeitos das variáveis, assim como das interações entre elas, pode corroborar informações já divulgadas no meio científico, ou até mesmo fornecer novas informações antes não observadas através do uso da otimização univariada. Além disso, essas ferramentas quimiométricas são bastante promissoras no que diz respeito à

expansão do estudo e aplicação da técnica de geração de vapor químico para elementos ainda não explorados ou pouco explorados pela comunidade científica.

A seguir serão abordados alguns trabalhos reportados na literatura que desenvolveram métodos baseados na exploração da metodologia de otimização multivariada com o intuito de estudar e determinar as condições ótimas dos fatores que afetam a geração de vapor químico de cobre e cádmio empregando THB. Trabalhos desenvolvidos para a determinação simultânea de uma variedade de elementos que incluem a geração de vapor químico de cobre e cádmio também serão considerados e abordados.

Em 2006, Asfaw e Wibetoe [58] investigaram a possibilidade da determinação simultânea de elementos clássicos formadores de hidretos (As, Bi, Pb e Sb) com os não clássicos (Cd, Co, Cu, Ni e Zn) por ICP-MS utilizando introdução simultânea do vapor formado empregando NaBH_4 e aerossol do nebulizador. A fim de avaliar e obter informações a respeito dos parâmetros que podiam afetar o sistema os autores empregaram o planejamento Plackett-Burman, um tipo de planejamento fatorial fracionário simples e muito empregado para avaliar os efeitos principais dos fatores, ignorando as interações entre eles. O planejamento envolveu 5 fatores: concentração de tiouréia ($0,02 - 0,12 \text{ mol L}^{-1}$), de HNO_3 ($0,1 - 1,4 \text{ mol L}^{-1}$) e de NaBH_4 ($0,7 - 1 \%$) e vazão da amostra ($1 - 2 \text{ mL min}^{-1}$) e do NaBH_4 ($1 - 2 \text{ mL min}^{-1}$), e um total de 12 experimentos em duplicata. No domínio experimental estudado, nenhum efeito significativo dos fatores foi observado para Co, Cu, Ni e Zn, já para os demais elementos (As, Bi, Cd, Pb e Sb) todos os efeitos foram positivos, com a exceção de [tiouréia] para Bi e [HNO_3] para Cd, os quais foram negativos. A concentração de HNO_3 foi significativa para a determinação de As, Sb, Cd e Pb, a vazão da amostra influenciou significativamente a sensibilidade de Bi, Pb e Cd. A fim de aplicar uma metodologia de superfície de resposta para a determinação simultânea de todos os analitos selecionou-se os fatores que mais afetaram a maioria dos elementos: [Tiouréia], [HNO_3] e vazão de amostra. Aplicaram então, o planejamento composto central com 20 experimentos para esses fatores e juntamente com o cálculo da desejabilidade global, definiram as melhores condições para a determinação simultânea dos analitos. Alcançaram

ótimas sensibilidades para As, Bi e Sb, em relação à nebulização pneumática e para os outros elementos não foi observada alteração significativa na sensibilidade.

Em 2007 Peña-Vazquez et al. [59] aplicaram ferramentas quimiométricas na investigação e otimização de parâmetros que podiam afetar a geração simultânea de espécies voláteis de Ag, Au, Cd, Cu, Ni e Zn e a posterior detecção por ICP OES. Os principais fatores que afetam a geração de vapor e a determinação dos analitos de estudo foram selecionados através de um planejamento fatorial fracionário 2^{6-2} com a adição de dois pontos centrais (planejamento com 18 experimentos). Os fatores e os domínios experimentais investigados inicialmente foram: tipo de ácido (HCl ou HNO₃), vazão de argônio (0,6 – 1,2 L min⁻¹), concentração de ácido (0,25 – 0,45 mol L⁻¹), de NaBH₄ (1 – 2 %), de cobalto (1 – 3 mg L⁻¹) e de 8-hidroxiquinolina (20 – 200 mg L⁻¹). A resposta analítica utilizada foi à intensidade da linha de emissão mais sensível para cada analito. A avaliação dos resultados revelou que os fatores que afetaram o sistema nas condições de estudo foram: a concentração de 8-hidroxiquinolina (Au, Ni e Zn), a vazão de argônio (Au, Cd, Ag, Ni e Zn), o tipo de ácido (Ag, Au, Cd, Cu) e a concentração do ácido (Cd). Em relação ao tipo de ácido, o HNO₃ afetou positivamente a geração de vapor de Au, Cd e Cu, enquanto HCl só melhorou o sinal para Ag. Dessa forma, o HNO₃ foi o meio reacional selecionado para os experimentos futuros. A concentração de cobalto não foi significativa dentro do domínio experimental estudado, sendo a mesma fixada no nível mais baixo (1 mg L⁻¹). Nessas condições experimentais, o Co não apresentou efeito catalítico pronunciado com o aumento da sua concentração como foi observado no trabalho de Sun et al. [95], o qual aplicou otimização univariada e mesma faixa de trabalho e verificou que o aumento da concentração de Co na presença de 8-hidroxiquinolina afetava positivamente a geração simultânea de Cd e Zn. De acordo com os resultados do planejamento de triagem, um planejamento composto central com 26 experimentos envolvendo os fatores: [HNO₃], [8-hidroxiquinolina], [NaBH₄] e vazão de Ar, foi realizado para obter as condições ótimas para determinação simultânea de todos os analitos. Para tanto, uma função de desejabilidade geral foi aplicada e os valores ótimos dos fatores estudados para a geração e determinação

simultânea dos analitos foram: 0,43 mol L⁻¹ para [HNO₃], 38 mg L⁻¹ para [8-hidroxiquinolina], 2,24 % para [NaBH₄] e 0,74 L min⁻¹ para vazão de Ar. Nessas condições, o método proposto apresentou satisfatória linearidade, precisão menor que 10% e limites de detecção inferiores a 10 µg L⁻¹ para Au, Cd, Cu, Ni e Zn. O resultado obtido para concentração ácida do meio está concordante com outros trabalhos reportados na literatura, corroborando o que já foi observado por Pohl [32] que espécies voláteis de metais nobres e de transição são geradas em uma faixa estreita de concentração ácida (0,1 – 2 mol L⁻¹). Porém, alguns resultados diferiram de outros trabalhos por empregarem maiores concentrações de NaBH₄ e maiores vazões de argônio. O efeito significativo da concentração de 8-hidroxiquinolina na geração de espécies voláteis desses analitos só reforça a hipótese de que reagentes complexantes contribuem para o aumento do rendimento de reação, ao possivelmente formarem complexos com o analito que favorecem a sua reação com hidrobóris para produzir as espécies voláteis ou ao formarem compostos resultantes da sua interação com boranos [95] ou seus complexos aquosos, que também podem desempenhar um papel importante no aumento da eficiência de geração [33]. A significância da vazão de argônio confirma a informação abordada por Dedina e Tsalev [43], que perdas ou atrasos no transporte da espécie volátil para o atomizador podem ser minimizadas ajustando-se um valor ótimo para esse, uma vez que baixos fluxos de argônio favorecem a interação das espécies com as superfícies que entram em contato, diminuindo desta forma a resposta analítica.

Em 2005 Korkmaz et al. [83] empregaram planejamento fatorial fracionário de dois níveis e planejamento composto central para avaliação dos fatores e otimização das condições de geração de vapor frio de cádmio no modo de injeção em fluxo. O planejamento fatorial fracionário de dois níveis foi realizado envolvendo os seguintes fatores: comprimento de bobina de reação, comprimento da bobina *stripping*, concentração do carreador HCl, concentração de HCl na amostra e concentração de NaBH₄. Todos os fatores, dentro do domínio experimental avaliado, foram significativos, sendo que os fatores mais significativos foram o comprimento da bobina de reação, concentração de HCl (agente carreador) e concentração de NaBH₄. Esses três

fatores foram então otimizados empregando planejamento composto central, fixando o comprimento da bobina *stripping* em 20 cm, vazão de argônio em 170 mL min⁻¹ e acidez da amostra de 0,4 mol L⁻¹. Os resultados revelaram que entre os três fatores investigados o que mais influenciou a resposta foi o comprimento da bobina de reação, isto porque o comprimento influencia diretamente no tempo disponível para a ocorrência da reação de geração de vapor de cádmio. Os valores críticos obtidos foram: 30 cm, 0,3 mol L⁻¹ e 3 % (m/v) para comprimento de bobina de reação, concentração de HCl e de NaBH₄, respectivamente.

CAPÍTULO II
DETERMINAÇÃO DE COBRE EM MATERIAL PARTICULADO
ATMOSFÉRICO EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO
ATÔMICA COM GERAÇÃO DE VAPOR QUÍMICO

2.1 INTRODUÇÃO

O emprego da geração de vapor químico em conjunto com técnicas espectroanalíticas é comumente abordado para a determinação de alguns metais, como Hg, Pb, Sn e Bi e metalóides, como As, Ge, Sb e Te. Contudo, as reações envolvendo a geração de vapor químico de outros metais empregando sais de tetrahidroborato vêm sendo investigadas, a fim de expandir a aplicabilidade da técnica a diversos elementos e assim poder desfrutar das vantagens inerentes dessa forma alternativa de introduzir a amostra no sistema de detecção.

A geração de espécies voláteis de cobre empregando THB tem sido empregada em métodos analíticos para a determinação de cobre por diversos autores, porém a reação química envolvida não é totalmente conhecida e mais estudos são necessários para auxiliar no entendimento e elucidação, tanto da reação de formação quanto da natureza da espécie volátil de cobre. As ferramentas quimiométricas são de elevada importância nesses estudos, pois através de suas aplicações é possível caracterizar a influência de muitos fatores e de suas interações, otimizar métodos e trazer informações adicionais antes não alcançadas empregando otimização univariada.

A combinação da geração de vapor químico com técnicas espectroanalíticas de detecção para a determinação de metais e metalóides normalmente engloba a decomposição completa das amostras antes das análises das mesmas. Esta técnica de preparo de amostra envolve o consumo de grandes volumes de reagentes concentrados e corrosivos, maior risco de contaminação da amostra e maior tempo de análise, e uma alternativa simples e capaz de contornar esses problemas é o preparo de amostras sólidas através de sua suspensão em meios líquidos [96]. O uso da amostragem em suspensão com CVG, dessa forma, torna-se bastante atraente uma vez que viabiliza análises mais rápidas e reduz sinais de branco.

Com base no exposto, ferramentas quimiométricas foram empregadas na avaliação da influência e significância de uma variedade de parâmetros na geração química de espécies voláteis de cobre empregando THB. Além disso, permitiram a determinação das condições experimentais ótimas para o método proposto, o qual após um completo estudo de validação foi aplicado para a determinação de cobre em suspensões de material particulado atmosférico, a fim de avaliar a qualidade do ar e o impacto antrópico em duas regiões da Bahia, Brasil.

2.2 EXPERIMENTAL

2.2.1 Instrumentação para a determinação de cobre por CVG QTA AAS

Concentrações de cobre foram medidas usando o espectrômetro de absorção atômica contrAA 700 da Analytik Jena (Jena, Alemanha), o qual possui uma lâmpada de arco curto de xenônio de alta intensidade de emissão que opera em modo hot spot, um monocromador duplo de alta resolução e um dispositivo de cargas acopladas (CCD) como detector. A concentração de cobre foi determinada por análise da altura de pico utilizando o comprimento de onda de 324,7540 nm (linha principal). As medidas analíticas foram realizadas empregando um tempo de espera de 23 segundos e um tempo de leitura de 25 segundos.

Um módulo gerador de hidretos HS50 da Analytik Jena (Jena, Alemanha), foi acoplado ao espectrômetro contrAA 700, o qual utiliza o princípio de transporte pneumático para transferir o agente derivatizante (THB) para a célula reacional. Toda a operação do sistema foi em modo batelada. Argônio com a pureza de 99,996% (White Martins, São Paulo, Brasil) foi utilizado para transportar o hidreto formado na célula reacional para o tubo de quartzo T, o qual foi aquecido usando uma chama composta por acetileno a uma vazão de 70 L h⁻¹ e ar a uma vazão de 440 L h⁻¹, resultando em uma razão (combustível/oxidante) de 0,159.

As suspensões das amostras foram preparadas utilizando banho ultrassônico modelo USC -1850 UNIQUE (Indaiatuba, São Paul, Brasil) com uma frequência de 25 kHz e potência de 154 W.

Todos os equipamentos fazem parte do instrumental analítico do Laboratório de Pesquisa em Química e Quimiometria do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia.

2.2.2 Reagentes

Reagentes de grau analítico foram usados em todos os ensaios e todas as soluções foram preparadas usando água ultrapura (18 MΩ cm) obtida por um sistema de purificação de água Milli-Q da Millipore (Bedford, MA, EUA). Soluções padrões de cobre de uma faixa de concentração de 1 a 100 µg L⁻¹ foram preparadas a partir de diluições da solução estoque de 1000 mg L⁻¹ da Merck (Alemanha). O HCl 6 mol L⁻¹ utilizado no preparo das suspensões e no sistema reacional para a geração de espécies voláteis de cobre foi preparado a partir de HCl concentrado (37 % v/v, Merck). Solução de sulfanilamida 2% (m/v) foi preparada por dissolução do reagente sólido em ácido clorídrico diluído (0,2 mol L⁻¹). Solução de THB a uma concentração de 4,6 % (m/v) foi preparada diariamente por dissolução de sais de NaBH₄ (Merck) em solução de NaOH (Merck) 0,5 % (m/v). Para a avaliação da exatidão foi utilizado material de referência certificado de material particulado urbano SRM (1648a) proveniente do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) (Gaithersburg, MD, USA). O álcool isoamílico (Merck) empregado como antiespumante foi introduzido diretamente no frasco reacional. Todos as vidrarias e materiais de plástico antes de serem usados foram limpos por acidificação em HNO₃ 10% v/v, durante 48 h, com posterior enxágue com água Milli-Q.

2.2.3 Amostras de material particulado atmosférico

As amostras de material particulado atmosférico foram coletadas em duas distintas regiões do Estado da Bahia, Brasil. Ao total quatro amostras foram coletadas, duas delas em Bananeiras e as outras duas no Porto de Aratu. Bananeiras é um vilarejo situado na Ilha de Maré, região localizada na Baía de

Todos os Santos (Bahia, Brasil), aproximadamente a 300 metros do Porto de Aratu. O Porto de Aratu é o principal porto do estado da Bahia, Brasil, responsável por 60 % das operações portuárias da região. É localizado na Baía de Aratu e fornece suporte para o Centro Industrial de Aratu (CIA), bem como para o Polo Petroquímico de Camaçari.

As amostras de material particulado atmosférico foram coletadas por meio de um amostrador Hi-Vol sob uma vazão média de $1,14 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$ ao longo de um período de 24h de amostragem em filtro de quartzo com uma área de coleta de $403,6 \text{ cm}^2$ ($22,8 \times 17,7 \text{ cm}$, Energética, RJ, Brasil). As massas das amostras foram determinadas por pesagem dos filtros antes e depois da amostragem usando uma balança analítica (Sartorius Analytic, Goettingen, Alemanha). Os filtros foram dobrados e embalados em papel vegetal, colocados dentro de sacos plásticos fechados e transportados para o laboratório. No laboratório, os filtros foram cortados em discos com diâmetro de $4,8 \text{ cm}$ ($18,09 \text{ cm}^2$ de área) antes de serem dobrados, embalados em papel vegetal e armazenados em frigorífico até a análise.

2.2.4 Preparo das amostras

Para as análises, metade dos discos de filtros contendo material particulado foram cortados em seções bem pequenas com uma tesoura de aço inoxidável. As suspensões das amostras foram preparadas colocando a massa correspondente a metade do disco de filtro picotado (aproximadamente $60,0 \text{ mg}$) e 2 mL de solução de $\text{HCl } 6 \text{ mol L}^{-1}$ em um balão volumétrico de 25 mL . O sistema foi então submetido a sonicação por 30 min , a temperatura ambiente. O mesmo procedimento foi aplicado no material de referência certificado SRM 1648a (Material Particulado Urbano), usando uma massa de $100,0 \text{ mg}$.

2.2.5 Estratégia de otimização

Estudos dos parâmetros experimentais que afetam a geração de espécies voláteis de cobre usando THB e a determinação das condições ótimas foram conduzidas usando planejamento fatorial completo de dois níveis e planejamento Box-Behnken. A resposta quimiométrica avaliada foi a

absorvância (ABS) em termos da altura de pico. Todos os dados quimiométricos foram processados usando o programa STATISTICA 8.0 e os erros experimentais foram estimados usando triplicatas do ponto central.

2.2.6 Procedimento geral

Inicialmente, 245 μL de ácido clorídrico 6 mol L^{-1} e 2,8 mL de sulfanilamida 2 % (m/v) foram adicionados à célula de reação de 50 mL (tubo de centrífuga). Depois, uma alíquota de 500 μL da suspensão da amostra ou quantidades adequadas de solução padrão foram adicionadas à célula, seguida da adição de água ultrapura para alcançar um volume final de 7 mL. Então, 200 μL de álcool isoamílico foram adicionados à célula reacional, a qual em seguida foi conectada ao módulo de geração de hidretos (HS50). Por fim, 2,5 mL de NaBH_4 4,6 % (m/v) foram injetados no sistema fechado a uma vazão de 6,6 mL min^{-1} . O hidreto de cobre gerado era então transportado para a célula de quartzo com auxílio do gás carreador argônio.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

2.3.1 Otimização dos fatores químicos envolvidos na reação de íons de Cu (II) com THB

Primeiramente, foram avaliados a influência, significância e interação dos fatores, concentração de HCl (C_{HCl}), concentração de sulfanilamida (C_{Sulfa}), volume (V_{NaBH_4}) e concentração de tetraidroborato de sódio (C_{NaBH_4}) na geração de vapor de espécies de cobre e determinação empregando espectrometria de absorção atômica com atomização em tubo de quartzo aquecido com chama. Para tanto foi executado um planejamento fatorial completo de dois níveis usando 5 mL de solução de cádmio a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os ensaios do planejamento foram realizados fixando o tempo de leitura em 30 segundos e a composição da chama em 65 L h^{-1} de acetileno e 440 L h^{-1} de ar, o que resultava em uma razão 0,148 (combustível/oxidante).

Os fatores e domínios experimentais foram escolhidos de acordo com informações divulgadas no meio científico. Uma breve revisão de Pohl [32] a

respeito dos avanços na geração de vapor químico de metais nobres e de transição destacou a influência do tipo de ácido na reação de geração de vapor das espécies e a influência positiva do uso de HCl e HNO₃ como meio reacional. Além disso, constatou a geração favorável de espécies voláteis de metais nobres e de transição empregando condições de baixa a média acidez na amostra.

Em adição, o emprego de HNO₃ geralmente é evitado em gerações de hidretos, uma vez que os produtos resultantes da sua decomposição são considerados interferentes que reduzem a eficiência dos sistemas que empregam ácido e THB [53].

Ainda de acordo com a revisão de Pohl, maiores respostas analíticas são obtidas quando se aumenta a concentração do redutor NaBH₄. Porém, altas concentrações levam a uma geração vigorosa de hidrogênio que interfere negativamente no desempenho do atomizador e na liberação da espécie da fase líquida. Normalmente concentrações ótimas de THB entre 0,1 a 3 % (m/v) são empregadas [32].

No presente trabalho, os experimentos foram realizados utilizando 200 µL de álcool isoamílico (antiespumante), a fim de evitar ou minimizar as interferências negativas resultantes do emprego de maiores concentrações de NaBH₄.

O uso de reagentes inorgânicos e orgânicos para melhorar a eficiência de geração de vapor químico de metais nobres e de transição vem sendo explorado em muitas investigações. Dentre estes, a o-fenantrolina [54,56,59], cobalto e 8-hidroxiquinolina [59] e líquidos iônicos [55] se destacam como aditivos para a geração de vapor químico de cobre. Testes iniciais realizados neste trabalho empregando 8-hidroxiquinolina e sulfanilamida evidenciaram um efeito de enriquecimento mais significativo ao empregar a sulfanilamida como aditivo. A sulfanilamida foi previamente testada como reagente quelante enriquecedor em um método proposto para a determinação de Cd em amostras de solo empregando CVG AFS [97].

A matriz do planejamento com valores reais e codificados e as respostas quimiométricas em absorvância estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Planejamento fatorial para os parâmetros químicos envolvidos na geração de vapor de espécies de cobre

Experimento	C_{HCl} (mol L⁻¹)	C_{Sulfa} % (m/v)	V_{NaBH₄} (mL)	C_{NaBH₄} % (m/v)	ABS
1	- 1 (0,5)	-1 (0)	-1 (1)	-1 (0,5)	0,00635
2	1 (2,5)	-1 (0)	-1 (1)	-1 (0,5)	0,00660
3	- 1 (0,5)	1 (0,4)	-1 (1)	-1 (0,5)	0,00753
4	1 (2,5)	1 (0,4)	-1 (1)	-1 (0,5)	0,00570
5	- 1 (0,5)	-1 (0)	1 (4)	-1 (0,5)	0,00590
6	1 (2,5)	-1 (0)	1 (4)	-1 (0,5)	0,00324
7	- 1 (0,5)	1 (0,4)	1 (4)	-1 (0,5)	0,00515
8	1 (2,5)	1 (0,4)	1 (4)	-1 (0,5)	0,00280
9	- 1 (0,5)	-1 (0)	-1 (1)	1 (3,5)	0,02158
10	1 (2,5)	-1 (0)	-1 (1)	1 (3,5)	0,00487
11	- 1 (0,5)	1 (0,4)	-1 (1)	1 (3,5)	0,02698
12	1 (2,5)	1 (0,4)	-1 (1)	1 (3,5)	0,00453
13	- 1 (0,5)	-1 (0)	1 (4)	1 (3,5)	0,02951
14	1 (2,5)	-1 (0)	1 (4)	1 (3,5)	0,00386
15	- 1 (0,5)	1 (0,4)	1 (4)	1 (3,5)	0,03451
16	1 (2,5)	1 (0,4)	1 (4)	1 (3,5)	0,00336
17 (PC)*	0 (1,5)	0 (0,2)	0 (2,5)	0 (2,0)	0,00420
18 (PC)*	0 (1,5)	0 (0,2)	0 (2,5)	0 (2,0)	0,00388
19 (PC)*	0 (1,5)	0 (0,2)	0 (2,5)	0 (2,0)	0,00454

* PC: Ponto Central

Os dados obtidos do planejamento fatorial foram avaliados empregando o programa STATISTICA. A falta de ajuste para o modelo foi constatada e os efeitos aproximados dos fatores e das interações foram calculados. Seguem abaixo os efeitos significativos com seus intervalos de confiança a um nível de 95%.

$$\text{Efeito } C_{\text{HCl}} = (-0,0128 \pm 0,0007)$$

$$\text{Efeito } C_{\text{HCl}} \times C_{\text{NaBH}_4} = (-0,0112 \pm 0,0007)$$

$$\text{Efeito } C_{\text{NaBH}_4} = (0,0107 \pm 0,0007)$$

$$\text{Efeito } V_{\text{NaBH}_4} \times C_{\text{NaBH}_4} = (0,0028 \pm 0,0007)$$

$$\text{Efeito } C_{\text{HCl}} \times V_{\text{NaBH}_4} = (-0,0026 \pm 0,0007)$$

$$\text{Efeito } C_{\text{HCl}} \times V_{\text{NaBH}_4} \times C_{\text{NaBH}_4} = (-0,0018 \pm 0,0007)$$

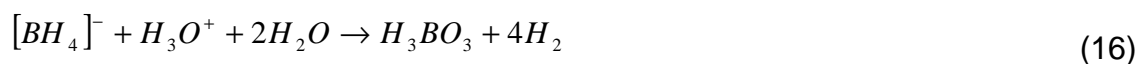
$$\text{Efeito } C_{\text{HCl}} \times C_{\text{Sulfa}} = (-0,0016 \pm 0,0007)$$

$$\text{Efeito } C_{\text{Sulfa}} \times C_{\text{NaBH}_4} = (0,0013 \pm 0,0007)$$

$$\text{Efeito } C_{\text{HCl}} \times C_{\text{Sulfa}} \times C_{\text{NaBH}_4} = (-0,0012 \pm 0,0007)$$

$$\text{Efeito } C_{\text{Sulfa}} = (0,0011 \pm 0,0007)$$

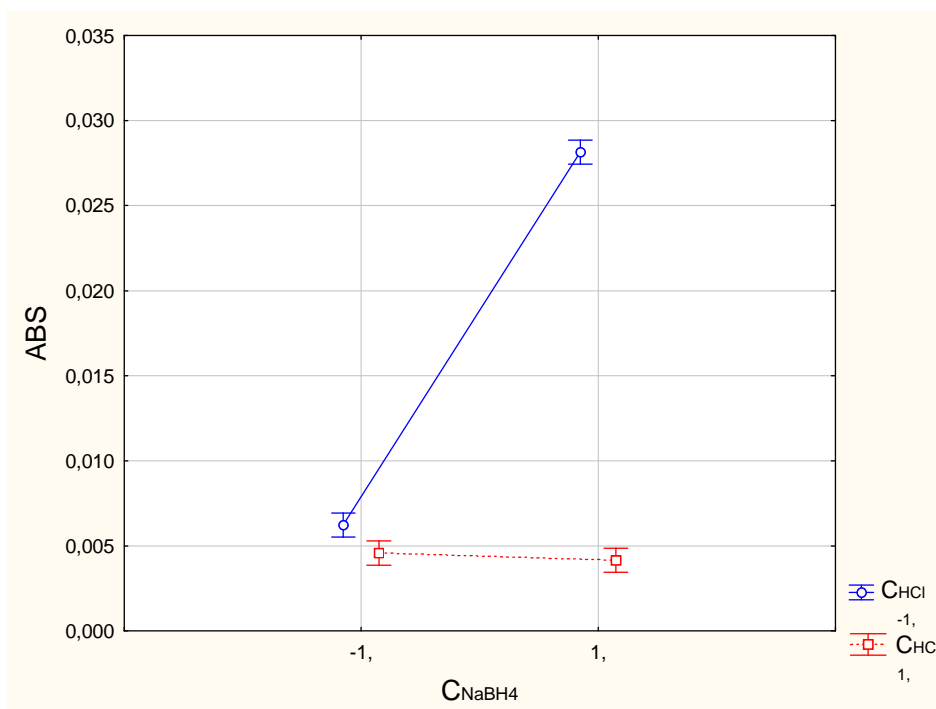
A avaliação dos resultados, considerando os domínios experimentais investigados, revelaram que a concentração de HCl exerceu a maior influência na geração de espécies voláteis de cobre. O valor negativo do efeito deste fator demonstra estatisticamente que a resposta analítica, absorvância, aumenta com a diminuição da concentração de ácido clorídrico. Este resultado pode ser explicado considerando que a hidrólise do THB aumenta em meio ácido mais concentrado, o que conduz a uma maior produção de hidrogênio, de acordo com a Equação 16 [45]. O hidrogênio dilui o analito (espécie volátil de cobre formada) na célula de quartzo durante as medidas analíticas, resultando na redução do sinal de absorvância.



A interação $C_{\text{HCl}} \times C_{\text{NaBH}_4}$ também tem uma grande influência no processo de geração de vapor de espécies de cobre e tem um efeito negativo no estudo em questão, ou seja, antagônico. O comportamento deste efeito de interação

pode ser visualizado e interpretado através do gráfico das médias marginais (Figura 2), no qual a falta de paralelismo entre as linhas confirma a significância do efeito de interação entre os fatores e revela que o aumento da concentração de NaBH_4 reduz de forma pouco significativa o sinal de ABS quando se trabalha com concentração de HCl no nível superior. Porém, quando se trabalha com concentração de HCl no nível inferior, maiores valores de ABS são alcançados quando maiores concentrações de NaBH_4 são empregadas.

Figura 2 - Gráfico das médias marginais para avaliação do efeito de interação ($C_{\text{HCl}} \times C_{\text{NaBH}_4}$)

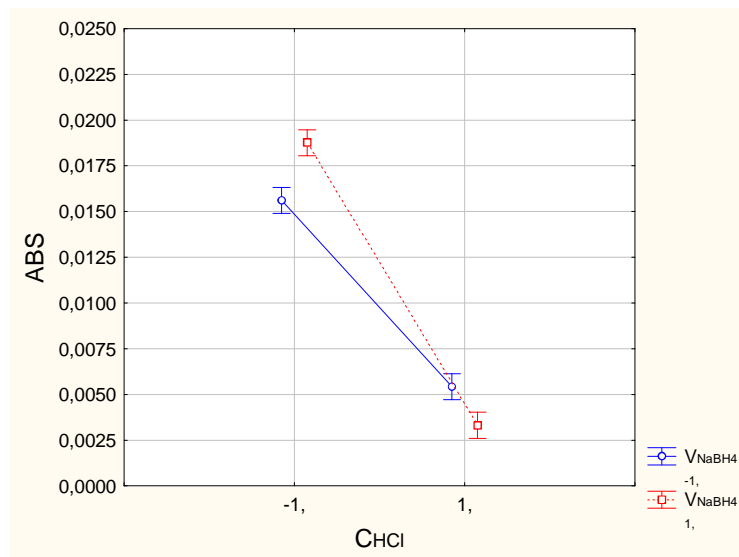
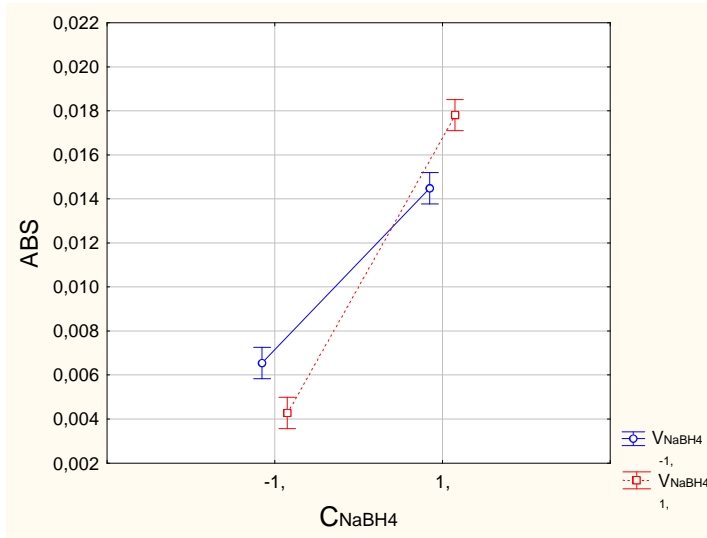


A concentração de NaBH_4 apresentou um efeito positivo de significativa importância, indicando que maiores concentrações deste favorece a formação de espécies voláteis de cobre, obtendo-se assim maiores sinais de ABS. A concentração de sulfanilamida também foi significativa para a geração, indicando que seu uso exerce uma influência positiva sobre o sistema, uma vez que o nível inferior desse fator consiste a sua própria ausência. Essa constatação só corrobora o fato de que reagentes complexantes favorecem a geração de vapor, muito provavelmente por formarem complexos com o analito favorecendo sua reação com hidrobóros para gerar as espécies voláteis ou por

formarem boranos complexos modificados, que também podem desempenhar um papel importante no aumento da eficiência de geração. Toda a sua importância para a geração também pode ser evidenciada pela significância dos seus efeitos de interação de segunda e inclusive de terceira ordem ($C_{\text{HCl}} \times C_{\text{Sulfa}}$), ($C_{\text{Sulfa}} \times C_{\text{NaBH}_4}$), ($C_{\text{HCl}} \times C_{\text{Sulfa}} \times C_{\text{NaBH}_4}$).

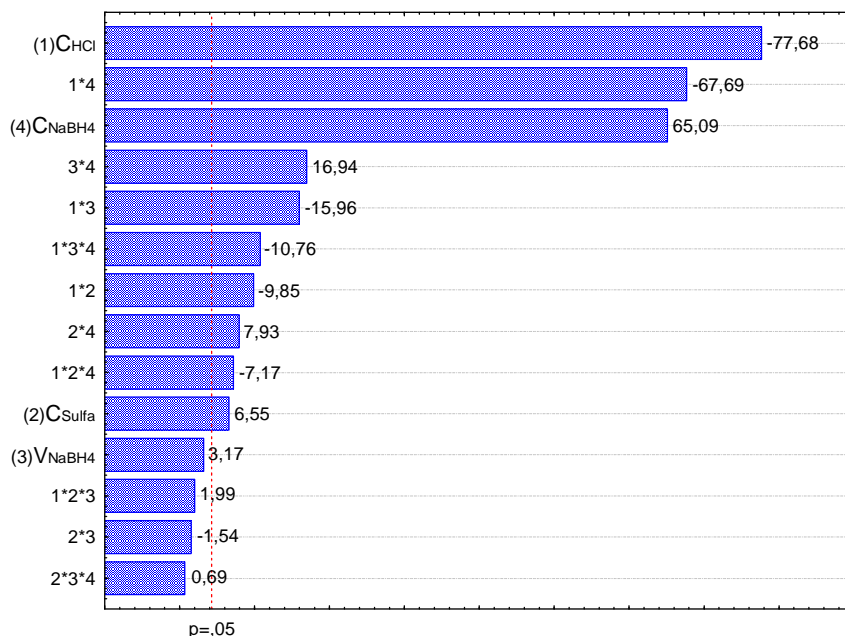
O volume de NaBH_4 isoladamente não foi significativo, dentro do domínio experimental avaliado. Porém, o mesmo apresentou efeitos significativos de interação com a concentração de HCl e de NaBH_4 . Os gráficos das médias marginais (Figura 3) para os efeitos de interação ($V_{\text{NaBH}_4} \times C_{\text{NaBH}_4}$) e ($C_{\text{HCl}} \times V_{\text{NaBH}_4}$) revelam que não há uma variação expressiva entre as absorvâncias utilizando volume mais alto (linha vermelha) ou mais baixo (linha azul) de NaBH_4 , frente a uma concentração mais alta de NaBH_4 ou mais baixa de HCl , condições estas que conduzem a maiores sinais de ABS. Assim, levando em consideração essas análises e o fato do volume isoladamente não ter sido significativo, o mesmo foi fixado no valor do seu ponto central de 2,5 mL.

Figura 3 - Gráficos das médias marginais para estudo dos efeitos de interação ($V_{NaBH_4} \times C_{NaBH_4}$) e ($C_{HCl} \times V_{NaBH_4}$)



As informações a respeito da importância estatística dos efeitos também podem ser visualizadas através do gráfico de pareto (Figura 4), no qual a significância dos efeitos dos fatores e das interações são interpretadas de acordo com as barras horizontais de cada fator e interação. Essas barras, ao ultrapassarem a linha vertical vermelha correspondente a um nível de confiança de 95%, assumem a característica de significantes e quanto mais afastadas deste limite, mais influência exercem sobre o sistema.

Figura 4 - Gráfico de pareto em função dos valores da estatística de teste t referente ao estudo dos fatores químicos da reação de íons de Cu (II) com THB



De posse das informações a respeito das variáveis e das interações que exerceram maiores influências sobre o sistema, um planejamento Box-Behnken foi realizado para encontrar as condições experimentais ótimas, o qual incluiu os seguintes fatores: concentração de HCl (C_{HCl}), concentração de sulfanilamida (C_{Sulfa}) e concentração de tetrahydroborato de sódio (C_{NaBH_4}). Os valores codificados e reais estabelecidos no planejamento Box-Behnken estão apresentados na Tabela 11.

Todos os ensaios foram realizados usando 5 mL de solução de cobre a $50 \mu\text{g L}^{-1}$, fixando o tempo de leitura em 30 segundos e de espera em 6 segundos, o volume do álcool isoamílico em 200 μL e a composição da chama em uma razão de 0,148 (combustível/oxidante).

Tabela 11 - Planejamento Box-Behnken para os parâmetros químicos envolvidos na geração de vapor de espécies de cobre.

Experimento	C _{HCl} (mol L ⁻¹)	C _{NaBH₄} % (m/v)	C _{sulfanilamida} % (m/v)	ABS
1	-1 (0,04)	-1 (4)	0 (0,6)	0,0367
2	1 (0,4)	-1 (4)	0 (0,6)	0,0316
3	-1 (0,04)	1 (6)	0 (0,6)	0,0193
4	1 (0,4)	1 (6)	0 (0,6)	0,0149
5	-1 (0,04)	0 (5)	-1 (0,4)	0,0167
6	1 (0,4)	0 (5)	-1 (0,4)	0,0249
7	-1 (0,04)	0 (5)	1 (0,8)	0,0351
8	1 (0,4)	0 (5)	1 (0,8)	0,0297
9	0 (0,22)	-1 (4)	-1 (0,4)	0,0459
10	0 (0,22)	1 (6)	-1 (0,4)	0,0546
11	0 (0,22)	-1 (4)	1 (0,8)	0,0534
12	0 (0,22)	1 (6)	1 (0,8)	0,0597
13 (PC)	0 (0,22)	0 (5)	0 (0,6)	0,0572
14 (PC)	0 (0,22)	0 (5)	0 (0,6)	0,0625
15 (PC)	0 (0,22)	0 (5)	0 (0,6)	0,0594

(PC): Ponto Central

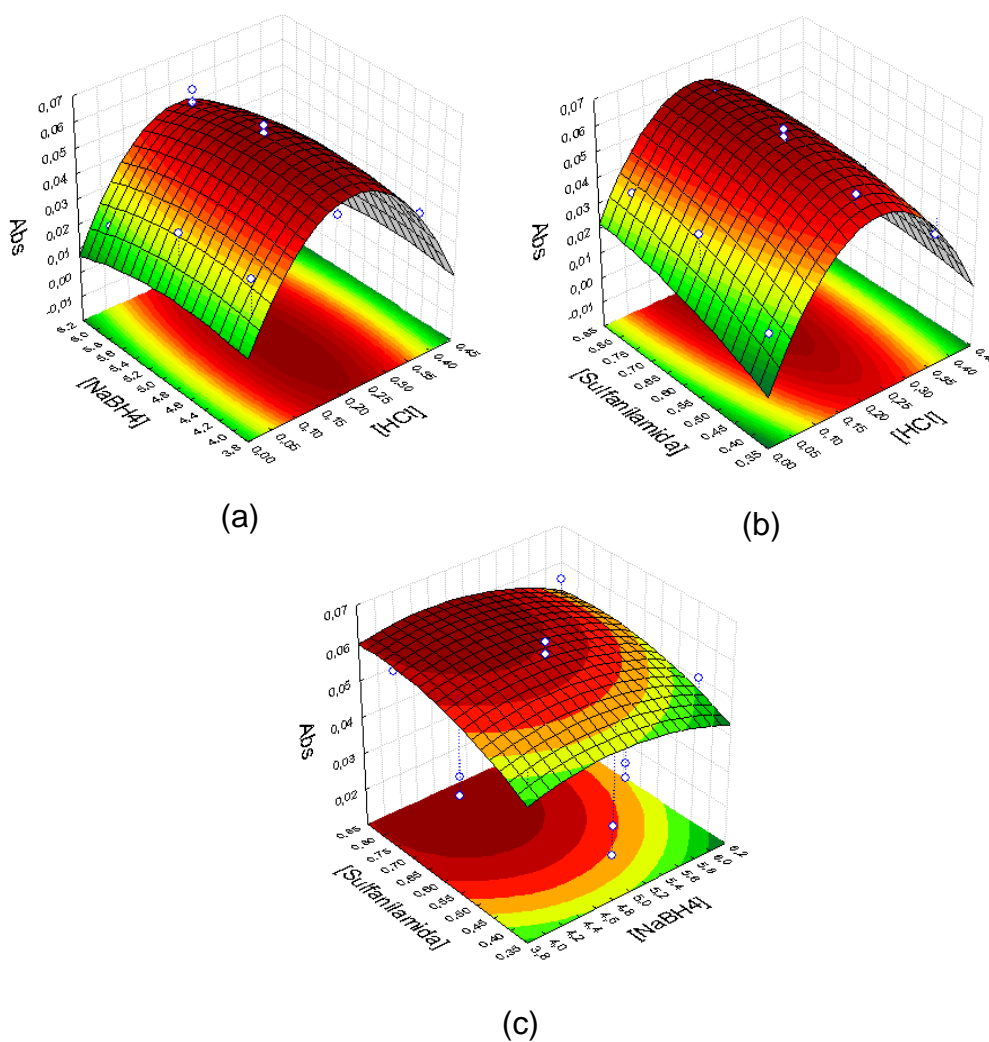
Os resultados obtidos com o planejamento Box-Behnken foram processados pelo programa STATISTICA 8.0, gerando um modelo quadrático que exibe uma superfície de resposta com um máximo de absorvância nas seguintes condições experimentais: concentração de HCl de 0,208 mol L⁻¹, concentração de NaBH₄ de 4,59 % (m/v) e concentração de sulfanilamida de 0,786 % (m/v). Considerando esses resultados, as condições experimentais ótimas para o método proposto estão apresentadas na Tabela 12. O resultado ótimo alcançado para concentração de HCl ratifica o constatado por Pohl [32], de que espécies voláteis de metais de transição são geradas de forma favorecida em uma faixa estreita de concentração ácida do meio reacional (0,1 - 2 mol L⁻¹).

Tabela 12 - Resumo das condições experimentais ótimas para os fatores químicos investigados envolvidos na geração de espécies voláteis de cobre

Fator investigados	Condição experimental ótima
Concentração de HCl	0,21 mol L ⁻¹
Concentração de NaBH ₄	4,6 % (m/v)
Concentração de sulfanilamida	0,80 % (m/v)

As superfícies de resposta obtidas da combinação de dois fatores estão apresentadas na Figura 5, nas quais é possível observar região de máximo (ABS máxima).

Figura 5 - Superfícies de resposta (a) = (ABS x [HCl] x [NaBH₄]), (b) = (ABS x [Sulfanilamida] x [HCl]), (c) = (ABS x [Sulfanilamida] x [NaBH₄])



A avaliação do modelo quadrático que foi ajustado aos dados experimentais foi feita por meio da verificação da falta de ajuste, utilizando o p-valor. No caso em questão, se o valor de **p** for acima de 0,05 (5%) significa que o modelo matemático de segunda ordem se ajusta bem aos dados, ou seja, não há falta de ajuste. Através da tabela ANOVA (Análise de Variância) (Tabela 13) para os resultados alcançados pela aplicação do planejamento Box-Behnken é possível inferir que os dados obtidos estão satisfatoriamente descritos, uma vez que valor de **p** para a falta de ajuste é igual a 0,0604 (> 0,05).

Tabela 13 - Análise da variância (ANOVA) para os dados apresentados na Tabela 11.

	SQ	GI	MQ	F	p-valor
(1) C_{HCl} L+Q	0,003426	2	0,001713	241,63	0,00412
(2) C_{NaBH₄} L+Q	0,000094	2	0,000047	6,6612	0,130528
(3) C_{Sulfa} L+Q	0,000186	2	0,000093	13,1438	0,070702
(1) x (2)	0,000000	1	0,000000	0,0173	0,907453
(1) x (3)	0,000046	1	0,000046	6,5219	0,125180
(2) x (3)	0,000001	1	0,000001	0,2031	0,696373
Falta de ajuste	0,000334	3	0,000111	15,7173	0,060410
Erro puro	0,000014	2	0,000007		
SQ total	0,004035	14			

SQ: soma quadrática; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática; Valor p: nível de probabilidade.

2.3.2 Otimização dos parâmetros físicos envolvidos na determinação de cobre por CVG QTA AAS

Na etapa de otimização dos parâmetros físicos, os fatores estudados foram: a composição da chama empregada na atomização (Composição_{chama}), vazão de introdução de NaBH₄ (V_{NaBH₄}), volume de álcool isoamílico (V_{álcool}) e volume inicial da fase líquida (V_{F_{líquida}}). A variação do fluxo de gases na chama ar/acetileno foi avaliada a fim de verificar se a mesma provoca alteração na

temperatura ao longo da chama que aquece a célula de quartzo, que por sua vez pode exercer influência na etapa de atomização da espécie volátil. O álcool isoamílico foi empregado para evitar a formação de bolhas e consequentemente espuma, que ocorre durante a adição de NaBH_4 na célula reacional. A fase líquida inicial é o volume da solução padrão/suspensão na célula reacional antes da adição de NaBH_4 . Estudos a respeito do volume de fase líquida de medição são de suma importância, uma vez que sinais normalmente não são obtidos quando as reações ocorrem em um volume de amostra relativamente grande. Volumes menores de reação permitem uma mistura rápida e completa da amostra com o THB e oferecem condição adequada para uma rápida e eficiente liberação da espécie volátil da fase líquida [34,39].

A composição da chama em termos da relação da vazão de acetileno e ar (combustível/oxidante), está evidenciada na Tabela 14.

Tabela 14 - Relação entre composição da chama e as vazões de ar e acetileno utilizadas

Composição da chama (combustível/oxidante)	Vazão de acetileno (L h⁻¹)	Vazão de ar (L h⁻¹)
0,136	60	440
0,159	70	440
0,182	80	440

Todos os ensaios foram realizados empregando volumes de fase líquida inicial (solução de medida) estabelecidos pelo planejamento, cada uma com a mesma massa de analito. Os valores ótimos dos parâmetros químicos, estabelecidos na otimização anterior, foram utilizados.

A matriz do planejamento, com valores reais e codificados e as absorvâncias obtidas como resposta quimiométrica, está apresentada na Tabela 15.

Tabela 15 - Planejamento fatorial completo (2^4) para os parâmetros físicos envolvidos na geração de vapor de espécies de cobre

Experimento	Comp. chama *	V_{NaBH_4} (mL min ⁻¹)	$V_{álcool}$ (μ L)	$V_{Fíliquida}$ (mL)	Abs
1	-1 (0,136)	- 1 (6,50)	- 1 (100)	-1 (2)	0,02015
2	1 (0,182)	- 1 (6,50)	- 1 (100)	-1 (2)	0,02077
3	-1 (0,136)	1 (16,50)	- 1 (100)	-1 (2)	0,00803
4	1 (0,182)	1 (16,50)	- 1 (100)	-1 (2)	0,01664
5	-1 (0,136)	- 1 (6,50)	1 (300)	-1 (2)	0,01517
6	1 (0,182)	- 1 (6,50)	1 (300)	-1 (2)	0,02770
7	-1 (0,136)	1 (16,50)	1 (300)	-1 (2)	0,00950
8	1 (0,182)	1 (16,50)	1 (300)	-1 (2)	0,01223
9	-1 (0,136)	- 1 (6,50)	- 1 (100)	1 (6)	0,04242
10	1 (0,182)	- 1 (6,50)	- 1 (100)	1 (6)	0,01673
11	-1 (0,136)	1 (16,50)	- 1 (100)	1 (6)	0,00350
12	1 (0,182)	1 (16,50)	- 1 (100)	1 (6)	0,00350
13	-1 (0,136)	- 1 (6,50)	1 (300)	1 (6)	0,07330
14	1 (0,182)	- 1 (6,50)	1 (300)	1 (6)	0,07198
15	-1 (0,136)	1 (16,50)	1 (300)	1 (6)	0,01529
16	1 (0,182)	1 (16,50)	1 (300)	1 (6)	0,01741
PC	0 (0,159)	0 (11,50)	0 (200)	0 (4)	0,03820
PC	0 (0,159)	0 (11,50)	0 (200)	0 (4)	0,03141
PC	0 (0,159)	0 (11,50)	0 (200)	0 (4)	0,03588

PC: Ponto Central

* : ar/acetileno

Os dados alcançados através do planejamento fatorial foram processados usando o programa STATISTICA 8.0, obtendo-se assim o gráfico de pareto (Figura 6) e os valores dos efeitos dos fatores e das interações. Os efeitos significativos dos fatores principais e das interações na geração de espécies voláteis de cobre são apresentados a seguir:

$$\text{Efeito } VI_{\text{NaBH}_4} = (-0,0253 \pm 0,0075)$$

$$\text{Efeito } VI_{\text{NaBH}_4} \times VF_{\text{líquida}} = (-0,0159 \pm 0,0074)$$

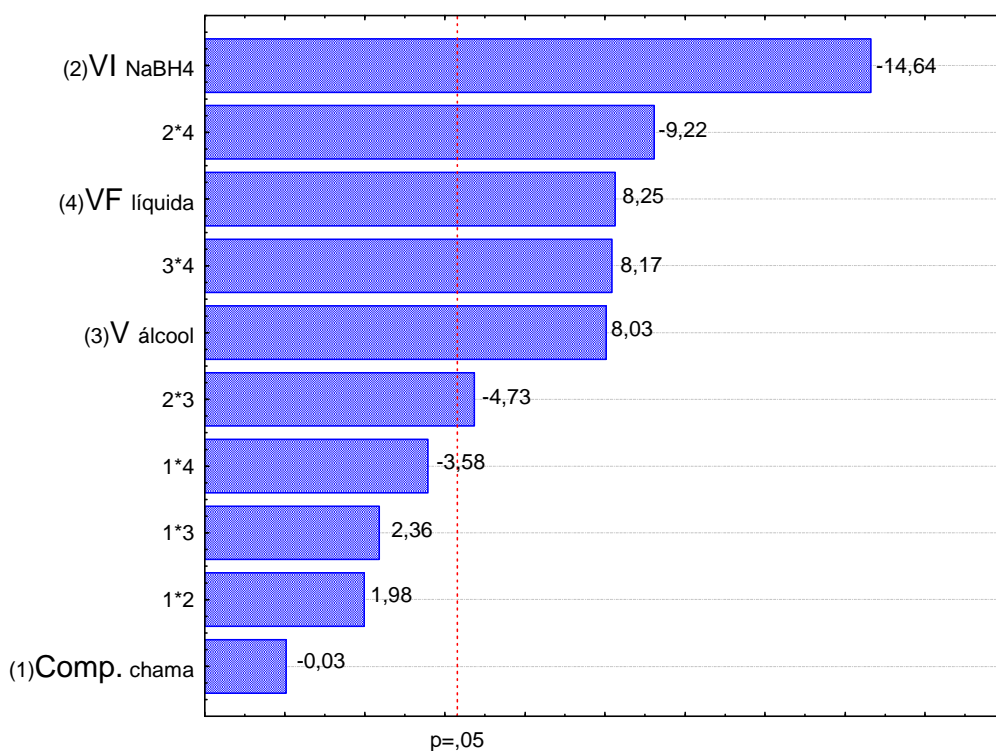
$$\text{Efeito } VF_{\text{líquida}} = (0,0142 \pm 0,0074)$$

$$\text{Efeito } V_{\text{álcool}} \times VF_{\text{líquida}} = (0,0141 \pm 0,0074)$$

$$\text{Efeito } V_{\text{álcool}} = (0,0139 \pm 0,0075)$$

$$\text{Efeito } VI_{\text{NaBH}_4} \times V_{\text{álcool}} = (-0,0082 \pm 0,0075)$$

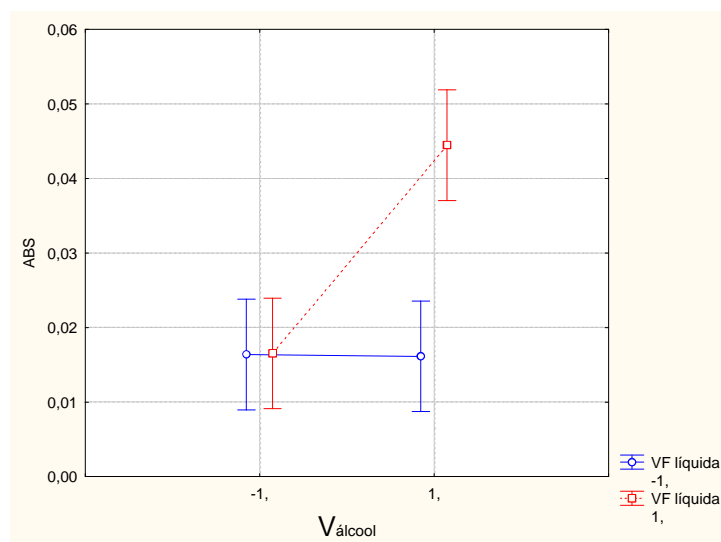
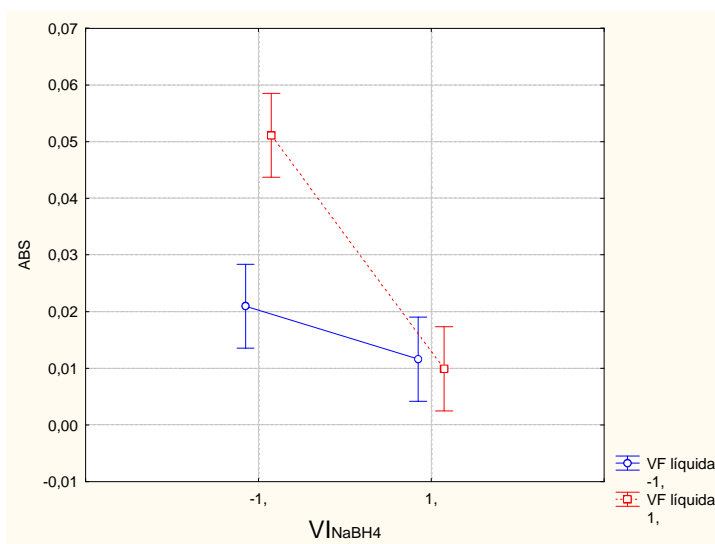
Figura 6 - Gráfico de pareto em função dos valores da estatística de teste t referente ao estudo dos fatores físicos envolvidos na geração de vapor químico de cobre



Entre todos os fatores estudados, a vazão de introdução de NaBH₄ exerceu maior influência na formação de espécies voláteis de cobre. Este fator tem um efeito negativo, que significa que a resposta quimiométrica (absorvância) aumenta com a diminuição da vazão de introdução NaBH₄. As análises dos dados da Tabela 15 mostram que os mais altos sinais analíticos (ABS) foram obtidos nos experimentos 13 e 14, os quais combinam maiores níveis para volume de álcool e volume da fase líquida com baixas vazões de NaBH₄.

A interação ($V_{\text{NaBH}_4} \times V_{\text{F}_\text{líquida}}$) foi estatisticamente significativa e com efeito negativo, indicando efeito antagônico das duas variáveis sobre a resposta analítica (ABS), ou seja, a resposta analítica aumenta com o aumento do volume inicial da fase líquida e com a diminuição da vazão de introdução de NaBH_4 . Outra interação de efeito significativo foi a interação ($V_{\text{álcool}} \times V_{\text{F}_\text{líquida}}$), a qual apresentou um efeito positivo também chamado de efeito sinérgico, que indica que o aumento de um fator reforça o outro em estudo, ou seja, o efeito do aumento do volume do álcool é pronunciado quando a reação é realizada em um volume de fase líquida maior. O gráfico das médias marginais (Figura 7) ajuda a visualizar os resultados dos experimentos e as informações discutidas.

Figura 7 - Gráficos das médias marginais para avaliação dos efeitos de interação ($V_{\text{NaBH}_4} \times V_{\text{F}_\text{líquida}}$) e ($V_{\text{álcool}} \times V_{\text{F}_\text{líquida}}$)



O fator volume da fase líquida apresentou um efeito significativo e positivo, indicando o favorecimento do uso de maiores volumes sobre o sinal analítico (ABS), levando em consideração o domínio experimental investigado. O volume de álcool isoamílico também teve um efeito estatisticamente significativo e positivo, que indica que o aumento do volume de álcool previne a formação de bolhas/espuma que claramente favorece a liberação e detecção de sinal de cobre (ABS). A composição da chama e suas interações não foram estatisticamente significativas, dentro do domínio experimental estudado, podendo então inferir que as diferentes composições exercem semelhante influência na etapa de atomização, sendo então fixada em seu valor médio, 0,159 (70 L h⁻¹ / 440 L h⁻¹).

Vale ressaltar que foram realizados experimentos na ausência de chama (ar/acetileno) e não foram obtidos sinais analíticos estatisticamente diferentes dos sinais do branco, ratificando que as espécies voláteis geradas são de natureza molecular. Possivelmente são formados hidretos instáveis com tendência a decompor-se, uma vez que durante a otimização, em algumas condições experimentais, havia formação de pequenas partículas escuras na solução.

Considerando os resultados obtidos através do planejamento fatorial completo de dois níveis, foram tomadas as seguintes decisões:

a) A vazão de introdução de NaBH₄ foi fixada em 6,50 mL min⁻¹, nível inferior do domínio experimental, uma vez que por limitações instrumentais este fator não pôde ser investigado em níveis menores, apesar de apresentar um efeito significativo negativo;

b) A composição da chama, como explicado anteriormente, foi fixada em 0,159 (combustível/oxidante);

c) O volume da fase líquida foi fixado em 7 mL, uma unidade superior ao seu nível máximo no planejamento, uma vez que afetou positivamente o processo e maiores volumes poderiam comprometer a eficiência de liberação da espécie volátil da fase líquida;

d) Como o volume de álcool isoamílico depende do volume da fase líquida, pois a interação desses fatores foi estatisticamente significativa e o volume foi fixado em 7 mL, um estudo aplicando metodologia univariada foi

realizado a fim de estabelecer o volume adequado de álcool para o procedimento.

O estudo univariado do efeito do volume do álcool realizado, fixando as condições experimentais das demais variáveis nos valores supracitados, demonstrou que sinais analíticos eram maiores e praticamente constantes quando se empregava volumes de álcool na faixa de 190 a 200 μL . Desta forma, o volume de álcool de 200 μL foi selecionado, sendo o mesmo capaz de prevenir a formação de bolhas durante o processo de geração de espécies voláteis de cobre, viabilizando a determinação de cobre por CVG QTA AAS.

Considerando todos os resultados alcançados, as condições experimentais ótimas para os fatores físicos investigados estão apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16 - Resumo das condições experimentais ótimas para os fatores físicos investigados envolvidos na geração de espécies voláteis de cobre

Fator investigados	Condição experimental ótima
Vazão de introdução de NaBH_4	6,5 mL min^{-1}
Composição da chama	(70 L h^{-1} acetileno/ 440 L h^{-1} ar).
Volume da fase líquida	7 mL
Volume de álcool isoamílico	200 μL

2.3.3 Estudos referentes ao preparo da amostra

Como a geração de espécies voláteis de cobre foi conduzida empregando ácido clorídrico no meio reacional, realizou-se um estudo do efeito da concentração do ácido clorídrico como solvente extrator no preparo da suspensão das amostras de material particulado atmosférico.

Os experimentos foram realizados utilizando o procedimento geral otimizado para a determinação de cobre, CRM de material particulado urbano (SRM 1648a) e soluções de ácido clorídrico de 0,50 e 6 mol L^{-1} . A quantificação de cobre foi realizada na suspensão e também na solução sobrenadante após centrifugação.

Os resultados apresentados na Tabela 17 revelam que soluções de HCl 6 mol L⁻¹ extraem eficientemente o cobre para a fase líquida da suspensão, o que favorece a precisão e a exatidão quando se trabalha com este tipo de preparo de amostra. Logo, o mesmo foi selecionado como diluente no preparo das suspensões de material particulado urbano, promovendo excelentes recuperações de cobre no CRM estudado. Em contrapartida, os diluentes água e HCl diluído não foram adequados no preparo da suspensão, gerando baixos valores de recuperação.

Tabela 17 - Avaliação do efeito do diluente na eficiência de extração durante o preparo da suspensão de material particulado urbano

Solvente extrator	Forma de apresentação da amostra	Concentração de cobre encontrada (mg kg⁻¹)	Cobre recuperado (%)^a
Água	Suspensão	57 ± 13	9
Água	Sobrenadante	47 ± 8	8
HCl 0,5 mol L ⁻¹	Suspensão	80 ± 31	13
HCl 0,5 mol L ⁻¹	Sobrenadante	62 ± 6	10
HCl 6 mol L ⁻¹	Suspensão	570 ± 63	93
HCl 6 mol L ⁻¹	Sobrenadante	574 ± 66	94

^a Em relação ao valor certificado (610 ± 70) mg Kg⁻¹

2.3.4 Características analíticas do método

Empregando as condições estabelecidas na etapa de otimização, parâmetros de validação foram determinados para o método proposto. Os limites de detecção e quantificação, parâmetros importantes que influenciam na extensão da aplicabilidade do método, foram determinados de acordo com as recomendações da IUPAC (LD = 3 x s/b e LQ = 10 x s/b, onde s é o desvio padrão da leitura de brancos e b é a inclinação da curva de calibração). Os limites de detecção e quantificação obtidos para o método foram 0,3 e 1 µg L⁻¹ para um volume final de fase líquida de 7 mL.

A curva de calibração é aparentemente linear, devido a alta correlação, no intervalo de 1 a 100 µg L⁻¹, apresentando uma inclinação equivalente a

(0,00253 ± 0,00011). Experimentos envolvendo a técnica de adição de analito em amostras de material particulado atmosférico foram realizados a fim de avaliar o efeito de matriz e definir a técnica de calibração que deve ser empregada para a quantificação de cobre na matriz de estudo. Inclinação de curva analítica de (0,00249 ± 0,00009) foi obtida evidenciando que a determinação de cobre utilizando o método proposto pode ser realizada empregando a técnica de calibração externa com padrões aquosos, uma vez que não houve diferença significativa entre as inclinações das curvas analíticas.

A precisão, parâmetro que avalia a dispersão dos resultados experimentais, foi estimada através de 7 leituras de duas soluções padrões de cobre com concentrações de 5 e 50 µg L⁻¹. Os resultados expressos em termos de desvio padrão relativo (RSD %) foram 4,6 e 2,8 %, respectivamente. A exatidão foi avaliada mediante análise de material de referência certificado de material particulado urbano (SRM 1648a) do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST). O resultado (570 ± 63) mg kg⁻¹ obtido ao analisar o CRM empregando o método proposto foi concordante com o valor certificado (610 ± 70) mg kg⁻¹.

Para avaliar se houve diferença significativa entre o valor encontrado e o valor certificado, a um nível de confiança de 95%, foi aplicado o teste t, utilizando a seguinte equação:

$$|t| = \left| (x - \mu) \frac{\sqrt{n}}{s} \right| \quad (17)$$

Onde: x = média dos valores experimentais

μ = valor de referência

n = número de determinações

s = desvio padrão das medidas

De acordo com o referido teste, se o valor de t calculado for menor que o valor de t tabelado (valor crítico) não há diferença significativa entre o valor de referência e o valor obtido experimentalmente [98]. Dessa forma, sendo o valor de n igual a 4 e o valor de t calculado equivalente a 2,07, ou seja, menor que o

valor de t tabelado para n-1 graus de liberdade (3,182) é possível inferir que não há diferença significativa entre o valor obtido pelo método e o valor certificado, conferindo, assim, a exatidão ao método.

Em adição, a exatidão também foi avaliada através de testes de adição/recuperação utilizando amostra de material particulado atmosférico da região de Bananeiras - Bahia. O resultado alcançado é apresentado na Tabela 18.

Tabela 18 - Teste *spike* usando amostra de material particulado atmosférico (n=3)

	Cobre adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cobre encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação
Amostra	0,0	63,3 \pm 2,2	-
Amostra + cobre	60,0	121,6 \pm 1,2	97 %

A excelente recuperação de 97,13 % alcançada demonstra mais uma vez que a matriz da amostra não interfere na determinação de cobre empregando o método proposto (CVG QT AAS).

2.3.5 Determinação de cobre em material particulado atmosférico

O método proposto baseado na geração de vapor químico de cobre e detecção por AAS foi aplicado para a determinação de cobre em amostras de material particulado atmosférico coletadas em duas regiões do Estado da Bahia, Vilarinho de Bananeiras e Porto de Aratu. As concentrações de cobre encontradas e expressas com um intervalo de confiança de 95% estão apresentadas na Tabela 19.

Tabela 19 - Concentrações de cobre determinadas em amostras de material particulado atmosférico empregando CVG QTA AAS (n=3)

Amostras	Concentração de Cobre (ng m⁻³)
Vilarejo Bananeiras	
B 1	29,2 ± 3,6
B 2	14,5 ± 2,3
Porto de Aratu	
PA 1	130 ± 15
PA 2	164 ± 11

Os resultados obtidos estão de próximos a concordantes com outros previamente reportados na literatura, como o de Pereira et al. [99] cujas concentrações variaram entre 0,5 a 8,6 ng m⁻³ para a região de Bananeiras e 5,2 a 257 ng m⁻³ para o Porto de Aratu.

Como evidenciam os resultados, concentrações de cobre da região do Porto de Aratu foram maiores do que as encontradas na região de Bananeiras. Estes resultados refletem as características de cada região (influência antrópica), uma vez que o Porto de Aratu é um local de altas descargas de concentrados de cobre, os quais consistem em matérias-primas de uma empresa fabricante de cobre eletrolítico situada na cidade de Dias d'Ávila na Bahia, além de estar situado perto de centros industriais. Já Bananeiras é um vilarejo localizado na ilha de Maré, no qual não há atividades industriais nem tráfego de veículos, sendo que por estar localizado perto do Porto de Aratu as emissões de cobre podem alcançar essa região, a depender das direções dos ventos.

2.4 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

Os estudos quimiométricos realizados no presente trabalho permitiram de forma eficiente avaliar as influências dos fatores na geração de espécies voláteis de cobre e também demonstraram que este analito pode ser satisfatoriamente determinado empregando o método proposto CVG QT AAS, ao utilizar altas concentrações de NaBH₄ introduzido no sistema reacional

lentamente, baixas concentrações de HCl e álcool isoamílico para prevenir a formação de espuma, cuja ocorrência chega a prejudicar, ou até mesmo inviabilizar a análise.

O procedimento analítico proposto permite a determinação de quantidades traço de cobre em material particulado atmosférico com excelente precisão e exatidão. O emprego da amostragem em suspensão como procedimento de preparo de amostra atribui vantagens competitivas ao método em relação àqueles que se baseiam na digestão completa da amostra, uma vez que não requer aquecimento e uso de ácidos oxidantes concentrados, reduz o tempo de análise e minimiza os riscos de contaminação.

As concentrações de cobre nas amostras analisadas apresentaram valores concordantes com resultados encontrados por outros autores na mesma região.

CAPÍTULO III

PROCEDIMENTO ANALÍTICO AUTOMATIZADO PARA A DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO EM ÁGUAS NATURAIS EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE VAPOR FRIO E SISTEMA DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO COM MULTISERINGAS (MSFIA-CV AAS)

3.1 INTRODUÇÃO

O monitoramento de cádmio em amostras ambientais é de suma importância em virtude da sua elevada toxicidade e tendência a bioacumulação. Este elemento apresenta efeito carcinogênico e teratogênico em humanos e constitui grande risco aos organismos vivos e aos ecossistemas, sendo então a sua contaminação no meio ambiente uma preocupação de escala global. A inserção de cádmio em sistemas aquáticos naturais se dá principalmente pela mineração e fundição de metais não-ferrosos, pelo uso de fertilizantes fosfatados na agricultura e pelo despejo de águas residuais em corpos d'água.

Em virtude do seu potencial toxicológico e da sua crescente liberação para o meio ambiente por atividades antrópicas, o desenvolvimento de métodos sensíveis, simples e rápidos é fundamentalmente necessário para monitorar a qualidade de sistemas aquáticos naturais. É nesse contexto, que muitos trabalhos vêm propondo a combinação de diferentes estratégias, como geração de vapor frio, pré-concentração e injeção em fluxo, para alcançar excelentes sensibilidades que atendam aos baixos limites estabelecidos para níveis de Cd por agências regulamentadoras.

Em sua maioria, os trabalhos publicados que envolvem a determinação de Cd empregando geração de vapor frio exploram as técnicas de análise por injeção em fluxo (FIA) ou de fluxo contínuo (CF) [71, 74-77, 80-83], as quais usam bombas peristálticas como propulsoras de líquidos e são de fácil implementação. Porém, quando comparadas às técnicas de multicomutação como MSFIA, apresentam algumas desvantagens por conta dos seus modos de injeção. No caso das técnicas FIA e CF, o fluxo contínuo conduz os fluidos

para o sistema de detecção ou para o resíduo, consumindo uma grande quantidade de amostra e reagentes, ao mesmo tempo que gera volumes considerados de resíduo. Os sistemas baseados em MSFIA mostram um grande potencial em contornar essas desvantagens, uma vez que os fluidos só são injetados no sistema quando necessário e devolvidos aos seus frascos reservatórios quando não. Em adição, o uso de bombas peristálticas em sistemas FIA e CF conduz a uma necessidade de recalibração periódica das taxas de fluxo, uma vez que os tubos flexíveis utilizados se desgastam com o tempo [100].

Por fim, a técnica MSFIA combina características do sistema SIA, como robustez, versatilidade e baixos consumos de amostra e reagentes, com as do sistema FIA, como a elevada frequência e bom desempenho analítico [101,102,103].

Diante do exposto, o presente trabalho visou o desenvolvimento de um sistema automatizado, direto, sensível e rápido baseado no acoplamento da técnica de multicomutação, MSFIA à CV AAS, para determinar cádmio em amostras de águas naturais, sem etapa de pré-concentração e empregando metodologia de otimização multivariada para avaliar a influência dos fatores e otimizar a melhor condição experimental.

Este trabalho foi desenvolvido na Universidade das Ilhas Baleares (UIB), durante a estância de 6 meses na Espanha, referente ao Doutorado Sanduíche no Exterior - SWE, e sob co-orientação do Professor Dr. Víctor Cerdà.

3.2 ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO COM MULTISERINGAS (MSFIA)

A análise por injeção em fluxo com multisinga (MSFIA), empregada no desenvolvimento deste trabalho, foi uma alternativa introduzida em 1999 [102] pelo grupo de pesquisa Química Analítica, Automatização e Meio Ambiente da Universidade das Ilhas Baleares (UIB) em colaboração com a empresa CRISON (Barcelona, Espanha). Esta técnica é caracterizada pela utilização de um módulo de multisingas, as quais são movidas simultaneamente por um mesmo motor de passo, que permite a injeção ou aspiração de soluções para o caminho analítico ou para reservatórios originais de reagentes [101,103,104]

Cada seringa do módulo está na sua parte superior acoplada a uma válvula solenóide de três vias, as quais têm um canal comum e dois opcionais, permitindo assim a multicomutação. Quando a válvula não está ativa (posição OFF) se comunica com um dos canais opcionais e quando está ativa (Posição ON) o canal comum se comunica com o outro canal opcional. Estas posições, ON e OFF, são seleccionadas independentemente do deslocamento do pistão e consistem em duas direções opcionais de fluxo, tanto para o movimento ascendente como descendente do pistão. Normalmente, a posição ON é utilizada para injetar reagentes para o sistema e a posição OFF para aspirar e injetar reagentes no frasco reservatório [103,104].

3.2.1 Software AutoAnalysis

AutoAnalysis consiste em um programa desenvolvido pelo Grupo de pesquisa em Química Analítica, Automatização e Meio Ambiente da Universidade das Ilhas Baleares (Palma de Mallorca, Espanha), com o objetivo de oferecer versatilidade na automatização dos métodos analíticos. O programa AutoAnalysis permite a automatização ou semi-automatização de um grande número de técnicas de análise em fluxo, como FIA, SIA, MSFIA.

Ao trabalhar com o programa AutoAnalysis alguns passos são adotados. Primeiramente, se define a configuração, ou seja, define quais instrumentos serão utilizados e o esquema de conexão. Posteriormente, se define as etapas do método analítico através de sequências de instruções (operações), onde cada instrução comanda um instrumento utilizado ou dá comandos de espera, repetição, decisão, entre outros. Após a definição do método, o mesmo é executado para que as operações desejadas sejam realizadas e os resultados (dados) sejam obtidos. E finalmente, os dados são processados permitindo a detecção de picos, o cálculos de suas áreas e alturas, a obtenção de curvas de calibração, entre outros. Os dados também podem ser exportados para outros programas comerciais, como o Excel [104].

3.3 EXPERIMENTAL

3.3.1 Equipamentos e acessórios

Um espectrômetro de absorção atômica modelo AAnalyst 400 da PerkinElmer (Connecticut, EUA) equipado com uma lâmpada de cátodo oco de cádmio foi utilizado como detector. A concentração de cádmio foi determinada por análise da altura do pico utilizando o comprimento de onda de 228,8 nm.

No sistema MSFIA, um módulo de multisingas modelo Multi-Burette 4S (Crison Instruments S.A, Barcelona, Espanha) com taxas de fluxos programáveis foi empregado. Este módulo pode ser equipado com até quatro seringas, cada uma acoplada com uma válvula solenóide de três vias (NResearch, West Caldwell, NJ , EUA). No sistema proposto foram utilizados quatro seringas de vidro (Hamilton, Suíça): uma seringa de 2,5 mL, uma de 5 mL e duas de 10 mL. Uma válvula solenóide independente da Takasago Electric (Nagoya, Japão) foi utilizada no sistema e um conector de três vias foi utilizado para ligar os fluxos de argônio e NaBH_4 .

Dois separadores gás-líquido foram empregados no sistema, sendo os mesmos confeccionados através da adaptação de tubos de centrífuga de 50 e 15 mL. Um separador, para o qual todos os reagentes eram canalizados, foi usado como célula reacional. O outro separador localizado entre o primeiro separador e a célula de quartzo, foi utilizado para evitar transporte de gotículas para o sistema de detecção. Uma micro-bomba modelo Biochem Valve Inc. (Boonton, EUA), conectada através de uma saída externa, a qual é um gerador de pulsos (Sciware Systems, Bunyola, Espanha) para o módulo de multisingas, foi utilizada para drenar o líquido acumulado no segundo separador. Para ligar o segundo separador à célula de quartzo, um tubo de PTFE de 20 cm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro interno foi utilizado.

A sequência de comandos das multisingas foi executada através do software AutoAnalysis 5.0 (Sciware Systems). O software WinLab32 para AA (Perkin-Elmer, Connecticut, EUA) foi utilizado para registrar o sinal analítico.

Todos os equipamentos fazem parte do instrumental analítico do Laboratório de Química Analítica, Automatização e Meio Ambiente da Universidade das Ilhas Baleares (UIB) (Mallorca, Espanha).

3.3.2 Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura, produzida por um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e todas as vidrarias e recipientes passaram por procedimento de descontaminação utilizando banho de ácido nítrico 10 % (v/v).

Soluções estoque de cádmio 10 mg L^{-1} foram preparadas por diluição da solução estoque de cádmio (1000 mg L^{-1}) da MERCK (Alemanha) em ácido nítrico 0,05 % (v/v). As soluções padrões utilizadas diariamente nos experimentos foram preparadas por diluição da solução estoque de Cd 10 mg L^{-1} com ácido clorídrico 2 mol L^{-1} . Os brancos utilizados nesse estudo consistiam em soluções de HCl 2 mol L^{-1} preparadas a partir de diluição apropriada do HCl concentrado (Sigma-Aldrich, Alemanha).

Solução estoque de Hidróxido de sódio 0,5% (m/v) utilizada para estabilização da solução de NaBH_4 foi preparada a partir da dissolução de hidróxido de sódio (Scharlau, Barcelona, Espanha) em água ultrapura. Soluções de tetrahidrobórato de sódio 6 % (m/v) foram preparadas diariamente por dissolução de NaBH_4 sólido (Scharlau, Barcelona, Espanha) em solução de hidróxido de sódio 0,5 % (m/v), de acordo com o volume necessário para a análise do dia.

A solução carreadora de amostra, tiouréia 0,75% (m/v) em HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, foi preparada dissolvendo quantidades adequadas de tiouréia em grãos (Panreac, Espanha) em HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

3.3.3 Amostras de água de poço e água de mar

O método desenvolvido foi aplicado na determinação de cádmio em amostras de água de poço e água de mar coletadas em distintos locais de

Mallorca (Ilhas Baleares, Espanha), entre os meses de fevereiro e abril de 2014.

Doze amostras de água de poço foram coletadas em Mallorca (Ilhas Baleares, Espanha) entre as cidades de Santa Margalida, Arta, Manacor e Bunyola. Já as cinco amostras de água do mar da superfície da costa foram coletadas na cidade de Palma (Mallorca, Ilhas Baleares, Espanha). Todas as amostras foram coletadas em frascos de vidro âmbar previamente descontaminados com solução de ácido nítrico 10% (v/v), por 24 horas, e lavados com água ultrapura para remover ao máximo os contaminantes, especialmente Cd. No laboratório, as amostras foram filtradas através de um filtro de membrana de nylon de 0,45 µm para separar quaisquer partículas presentes. As amostras antes de serem analisadas eram acidificadas com HCl, de forma a alcançarem uma concentração final de 2 mol L⁻¹.

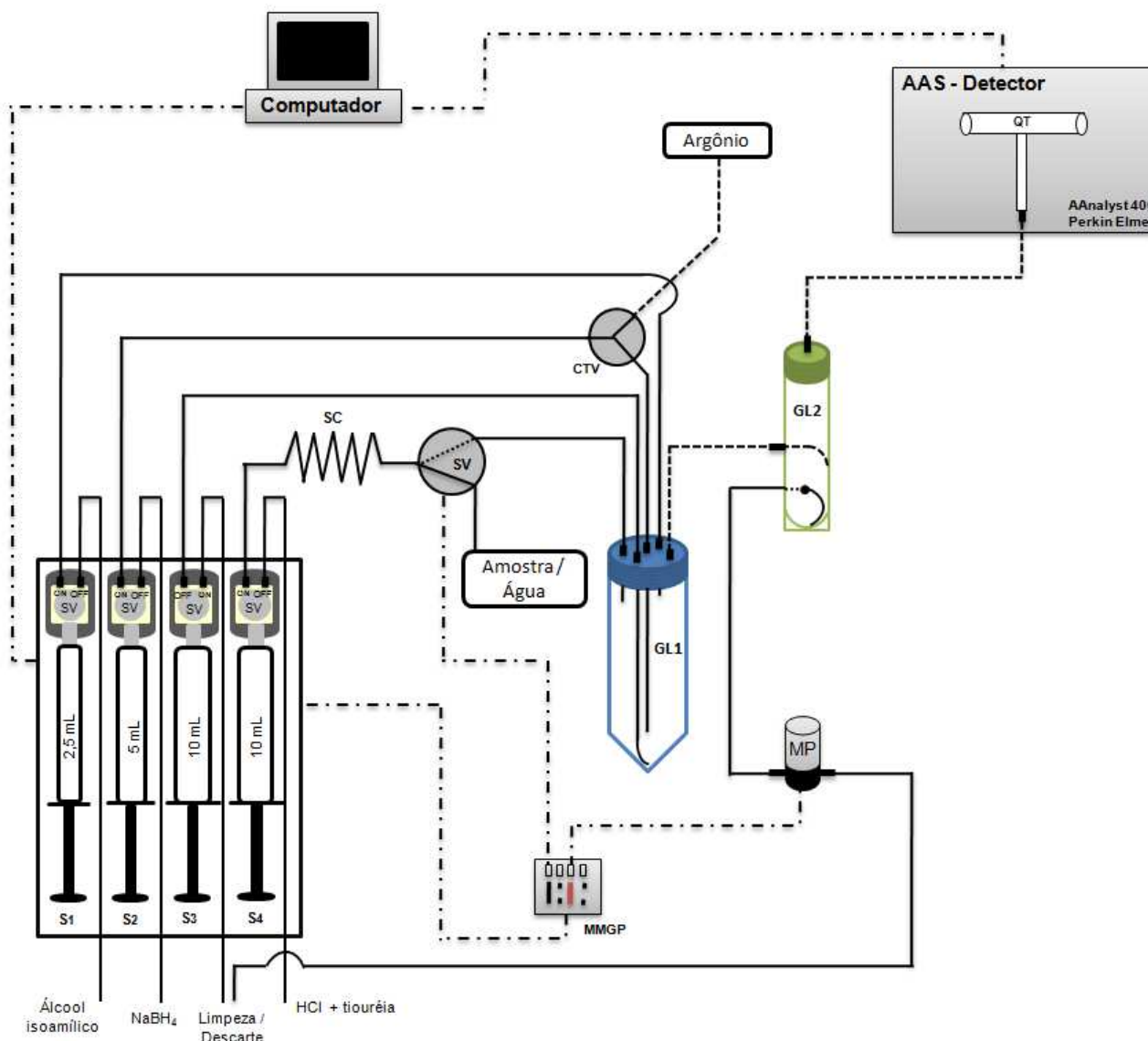
3.3.4 Estratégia de otimização - ferramentas quimiométricas

Estratégias de otimização multivariada foram empregadas na otimização do procedimento analítico proposto, tanto com o objetivo de avaliar a influência e significância das variáveis de estudo sobre o procedimento analítico, como o de determinar simultaneamente as condições ótimas das variáveis significativas para o sistema, obtendo assim as melhores respostas dentro do domínio experimental trabalhado. Como estratégias multivariadas foram empregadas: o planejamento fatorial completo e planejamento Box-Behnken. Respostas analíticas foram obtidas em termos de absorvância por altura de pico, sendo que os dados experimentais foram processados utilizando o programa STATISTICA 8.0.

3.3.5 Procedimento analítico geral

O Sistema MSFIA-CV AAS proposto para determinação de Cd em amostras de águas naturais está apresentado na Figura 8.

Figura 8 - Sistema MSFIA-CV AAS para determinação de cádmio.



SC: Bobina da amostra; GL1 e GL2: Separadores gás-líquido; MP: Micro-bomba; SV: Válvula solenóide; CTV: Conector de Três Vias; MMGP: Módulo Multivibrador Gerador de Pulsos; S1, S2, S3, S4: Seringas; QT: Célula de quartzo; AAS: Espectrômetro de Absorção Atômica

No sistema MSFIA proposto, quatro seringas (S1-S4), com suas correspondentes válvulas solenóide de comutação, foram empregadas. A seringa S1 continha álcool isoamílico; a seringa S2 foi utilizada para dispensar NaBH_4 na célula reacional; a seringa S3 foi empregada para procedimento de limpeza; e a seringa S4 foi utilizada para o carregamento da bobina de amostra e para dispensar a amostra na célula reacional, utilizando solução de tiouréia preparada em HCl como solução transportadora.

As quatro seringas operavam simultaneamente e conduziam as soluções de acordo com as posições de cada válvula solenóide. No sistema proposto as seringas S1, S2 e S4 dispensavam as soluções para o sistema na posição "on" e na posição "off" aspiravam as soluções dos frascos reservatórios. A seringa S3 trabalhava no sentido inverso, ou seja, na posição "off" os resíduos eram coletados do primeiro separador gás-líquido (GL1) situado no sistema, durante a etapa de limpeza e fluidos eram dispensados para o frasco de descarte na posição "on".

Antes da análise de cada amostra realizava-se a limpeza e condicionamento do sistema. Para tanto, 1 mL da amostra era aspirada através da seringa S4 para a bobina de retenção (SC) por ativação de uma válvula solenóide de três vias (SV). Em seguida, a válvula solenóide era alternada para a posição "Off" e 2 mL eram dispensados pela seringa S4 para o primeiro separador gás-líquido (GL1). Após essa etapa, a seringa S3 era acionada na posição "off", a fim de esvaziar o primeiro separador gás-líquido (GL1). Enquanto uma determinada seringa executava sua função, as demais seringas estavam dispensando ou aspirando fluido do seu respectivo frasco reservatório.

A etapa de condicionamento e limpeza era seguida pela etapa de injeção de amostra e leitura. Nessa etapa, 2 mL de amostra acidificada eram aspirados pela seringa S4 para a bobina, quando a válvula solenóide estava na posição "On". Em seguida, a mesma seringa era ativada e com a válvula solenóide na posição "Off" 2,8 mL eram dispensados para o primeiro separador gás-líquido, dos quais 2 mL equivalem a amostra e 0,8 mL equivalem a solução carreadora, uma solução de tiouréia em HCl. A seringa S1 então dispensava 70 μ L de álcool no separador gás-líquido (GL1). Após isso, as seringas aspiravam um volume adequado de reagentes para que posteriormente a seringa S2 dispensasse 4 mL do reagente redutor NaBH₄, os quais eram introduzidos no seio líquido do primeiro separador gás-líquido GL1 após serem misturados com argônio a uma vazão de 150 mL min⁻¹, através de um conector de 3 vias. O vapor químico de Cd gerado por esta reação era então transportado com auxílio do argônio para o segundo separador gás-líquido (GL2) e em seguida para célula de quartzo, onde era feita a detecção. Após um tempo de espera de 30 segundos, um protocolo de limpeza era realizado, o qual incluía duas etapas de aspiração e uma etapa para dispensar

o líquido, a fim de remover todo resíduo reacional do primeiro separador gás-líquido (GL1). Nas etapas de aspiração da série, era acionada uma microbomba (MP), que estava conectada ao segundo separador gás-líquido, para que todo líquido carregado para este separador fosse removido. Em seguida, era retomada a etapa de injeção e leitura, para análise em triplicata. Feito todas as leituras, uma etapa de limpeza com água era realizada. Todas as seringas eram operadas a uma vazão de $7,5 \text{ mL min}^{-1}$, em todas as etapas.

A sequência de comandos das multiseringas, para este procedimento analítico utilizando o programa AutoAnalysis, está representado na Tabela 20.

Tabela 20 - Sequência de comandos das multiseringas utilizando programa AutoAnalysis para determinação de Cd por MSFIA-CV AAS

Etapa	Comando	Seringa 1		Seringa 2		Seringa 3		Seringa 4		Válvula	Micro bomba
		Posição	Volume	Posição	Volume	Posição	Volume	Posição	Volume	Posição	Posição
ETAPA DE CONDICIONAMENTO E LIMPEZA											
1	Dispensar	OFF	0,25 mL	OFF	0,50 mL	ON	1 mL	OFF	1 mL	OFF	OFF
2	Aspirar	OFF	0,25 mL	OFF	0,50 mL	OFF	1 mL	ON	1 mL	ON	OFF
3	Dispensar	OFF	0,5 mL	OFF	1 mL	ON	2 mL	ON	2 mL	OFF	OFF
4	Dispensar	OFF	1 mL	OFF	2 mL	ON	4 mL	OFF	4 mL	OFF	OFF
5	Aspirar	OFF	1,5 mL	OFF	3 mL	OFF	6 mL	OFF	6 mL	OFF	OFF
6	Dispensar	OFF	0,5 mL	OFF	1 mL	ON	2 mL	OFF	2 mL	OFF	OFF
ETAPA DE INJEÇÃO DE AMOSTRA E LEITURA											
7	Aspirar	OFF	0,5 mL	OFF	1 mL	OFF	2 mL	ON	2 mL	ON	OFF
8	Dispensar	OFF	0,7 mL	OFF	1,4 mL	ON	2,8 mL	ON	2,8 mL	OFF	OFF
9	Dispensar	ON	0,07 mL	OFF	0,14 mL	ON	0,28 mL	OFF	0,28 mL	OFF	OFF
10	Aspirar	OFF	0,27 mL	OFF	0,54 mL	ON	1,08 mL	OFF	1,08 mL	OFF	OFF
11	Dispensar	OFF	2 mL	ON	4 mL	ON	8 mL	OFF	8 mL	OFF	OFF
ETAPA DE LIMPEZA DOS SEPARADORES GÁS-LÍQUIDO											
12	Aspirar	OFF	2,5 mL	OFF	5 mL	OFF	10 mL	OFF	10 mL	OFF	ON
13	Dispensar	OFF	2,5 mL	OFF	5 mL	ON	10 mL	OFF	10 mL	OFF	OFF
14	Aspirar	OFF	2,5 mL	OFF	5 mL	OFF	10 mL	OFF	10 mL	OFF	ON
ETAPA DE LIMPEZA											
15	Aspirar	OFF	0,25 mL	OFF	0,5 mL	OFF	1 mL	ON	1 mL	ON	OFF
16	Dispensar	OFF	0,5 mL	OFF	1 mL	ON	2 mL	ON	2 mL	OFF	OFF
17	Dispensar	OFF	1,75 mL	OFF	3,5 mL	ON	7 mL	OFF	7 mL	OFF	OFF
18	Aspirar	OFF	2,25 mL	OFF	4,5 mL	OFF	9 mL	OFF	9 mL	OFF	ON

As especificações do sistema MSFIA-CV AAS estão apresentadas na Tabela 21.

Tabela 21 - Parâmetros característicos do sistema MSFIA-CV AAS para determinação de cádmio em águas naturais complexas

Parâmetros do sistema MSFIA-CV AAS	
Fonte	Lâmpada de catodo oco (Cd)
Linha analítica	228,8 nm
Temperatura do atomizador	Temperatura ambiente
Comprimento do tubo de conexão entre separador gás-líquido e célula de quartzo	20 cm
Diâmetro interno dos tubos para sucção/dispensa de amostra e reagentes	1,5 mm
Diâmetro interno dos tubos para dispensa de amostra e reagentes para o sistema	0,8 mm
Volume do 1º separador gás-líquido	50 mL
Volume do 2º separador gás-líquido	15 mL

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.4.1 Otimização das condições experimentais para a determinação de cádmio por MSFIA-CV AAS

Com o intuito de obter as melhores condições para o método analítico proposto foram realizados estudos multivariados envolvendo fatores que apresentavam alto potencial de influência sobre a geração e determinação de cádmio empregando o sistema MSFIA-CV AAS.

Durante a etapa de otimização os fatores foram separados e investigados em grupos, de acordo com suas prioridades. O grupo principal envolvia os fatores: concentração de ácido clorídrico, concentração de borohidreto de sódio, volume de borohidreto de sódio e volume de álcool isoamílico. Já o grupo secundário envolvia os parâmetros físicos, vazão de borohidreto de sódio e vazão de argônio.

Para a avaliação dos fatores mencionados, foi realizado primeiramente um planejamento fatorial completo (2^n) para cada um dos grupos, a fim de estimar a significância e o efeito dos fatores, bem como da interação entre eles. De acordo com os resultados e as interpretações dos planejamentos, foram tomadas decisões distintas para cada um dos grupos de fatores. Para o grupo principal foi aplicado um planejamento Box-Behnken com o objetivo de obter as condições críticas de cada fator e para o grupo secundário foi realizado um estudo univariado envolvendo o parâmetro físico vazão de argônio.

3.4.1.1 Otimização dos fatores principais

Os fatores selecionados como principais foram os fatores que de acordo com a literatura apresentam maior potencial de influência sobre a reação de geração de vapor frio de cádmio, com a exceção do álcool isoamílico, que foi introduzido nesse estudo com a finalidade de reduzir a formação de espuma, ao trabalhar com condições extremas e positivas. A formação de espuma normalmente reduz o sinal analítico (resposta) e algumas vezes, quando

intensa, inviabiliza a análise ao transportar gotículas que se acumulam na célula de quartzo (sistema de detecção).

PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO (2⁴)

O planejamento fatorial completo (2⁴) foi realizado com o objetivo de avaliar preliminarmente a influência de alguns fatores (concentração de NaBH₄, concentração de HCl da solução, volume de NaBH₄ e volume de álcool isoamílico), assim como das interações entre eles sobre o sistema em estudo. Os experimentos foram realizados utilizando por análise 2 mL de solução de cádmio 5 µg L⁻¹ em HCl com concentração definida pelo planejamento, e mantendo fixa a vazão de argônio em 110 mL min⁻¹ e a vazão de introdução de NaBH₄ em 6 mL min⁻¹. Foi empregado como agente carreador de amostra uma solução de HCl 0,05 mol L⁻¹ e todos os experimentos foram realizados utilizando somente um separador gás-líquido conectado a célula de quartzo por um tubo de 30 cm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro interno. As respostas quimiométricas foram em termos de absorvância (ABS) obtida através da altura de pico.

A matriz de planejamento requerida para a execução dos experimentos, juntamente com os valores reais e codificados e os resultados, está representada na Tabela 22.

Tabela 22 - Matriz de experimentos e resultados do planejamento fatorial completo (2^4) para determinação de cádmio empregando MSFIA-CV AAS.

Experimento	Vol. NaBH ₄ mL	Vol. álcool μL	[NaBH ₄] % (m/v)	[HC] mol L ⁻¹	ABS
1	- 1 (2)	- 1 (0)	- 1 (2)	- 1 (0,5)	0,0322
2	1 (4)	- 1 (0)	- 1 (2)	- 1 (0,5)	0,0233
3	- 1 (2)	1 (200)	- 1 (2)	- 1 (0,5)	0,0549
4	1 (4)	1 (200)	- 1 (2)	- 1 (0,5)	0,0175
5	- 1 (2)	- 1 (0)	1 (4)	- 1 (0,5)	0,2139
6	1 (4)	- 1 (0)	1 (4)	- 1 (0,5)	0,1066
7	- 1 (2)	1 (200)	1 (4)	- 1 (0,5)	0,0843
8	1 (4)	1 (200)	1 (4)	- 1 (0,5)	0,1367
9	- 1 (2)	- 1 (0)	- 1 (2)	1 (2,5)	0,0036
10	1 (4)	- 1 (0)	- 1 (2)	1 (2,5)	0,0060
11	- 1 (2)	1 (200)	- 1 (2)	1 (2,5)	0,0056
12	1 (4)	1 (200)	- 1 (2)	1 (2,5)	0,0043
13	- 1 (2)	- 1 (0)	1 (4)	1 (2,5)	0,0396
14	1 (4)	- 1 (0)	1 (4)	1 (2,5)	0,1837
15	- 1 (2)	1 (200)	1 (4)	1 (2,5)	0,0211
16	1 (4)	1 (200)	1 (4)	1 (2,5)	0,2472
17 (PC)	0 (3)	0 (100)	0 (3)	0 (1,5)	0,0511
18 (PC)	0 (3)	0 (100)	0 (3)	0 (1,5)	0,0543
19 (PC)	0 (3)	0 (100)	0 (3)	0 (1,5)	0,0479
20 (PC)	0 (3)	0 (100)	0 (3)	0 (1,5)	0,0529

(PC) - Ponto Central

De posse dos resultados e utilizando o programa STATISTICA 8.0, foram gerados: a tabela ANOVA (Análise de Variância) (Tabela 23), o gráfico de pareto (Figura 9) e as superfícies de respostas (Figura 11).

Tabela 23 - Análise da variância do planejamento fatorial completo apresentado na Tabela 22.

	SQ	GI	MQ	F	Valor p
(1) Vol. NaBH₄	0,004560	1	0,004560	597,070	0,000150
(2) Vol. álcool	0,000087	1	0,000087	11,387	0,043270
(3) [NaBH₄]	0,049029	1	0,049029	6420,214	0,000004
(4) [HCl]	0,001566	1	0,001566	205,087	0,000738
(1) x (2)	0,002743	1	0,002743	359,207	0,000321
(1) x (3)	0,008123	1	0,008123	1063,621	0,000063
(1) x (4)	0,013954	1	0,013954	1827,174	0,000028
(2) x (3)	0,000321	1	0,000321	42,074	0,007438
(2) x (4)	0,001022	1	0,001022	133,880	0,001386
(3) x (4)	0,000214	1	0,000214	28,008	0,013163
(1) x (2) x (3)	0,004689	1	0,004689	613,989	0,000144
(1) x (2) x (4)	0,000175	1	0,000175	22,903	0,017349
(1) x (3) x (4)	0,008916	1	0,008916	1167,536	0,000055
(2) x (3) x (4)	0,001622	1	0,001622	212,406	0,000700
Falta de ajuste	0,002238	2	0,001119	146,541	0,001020
Erro puro	0,000023	3	0,000008		
SQ total	0,099282	19			

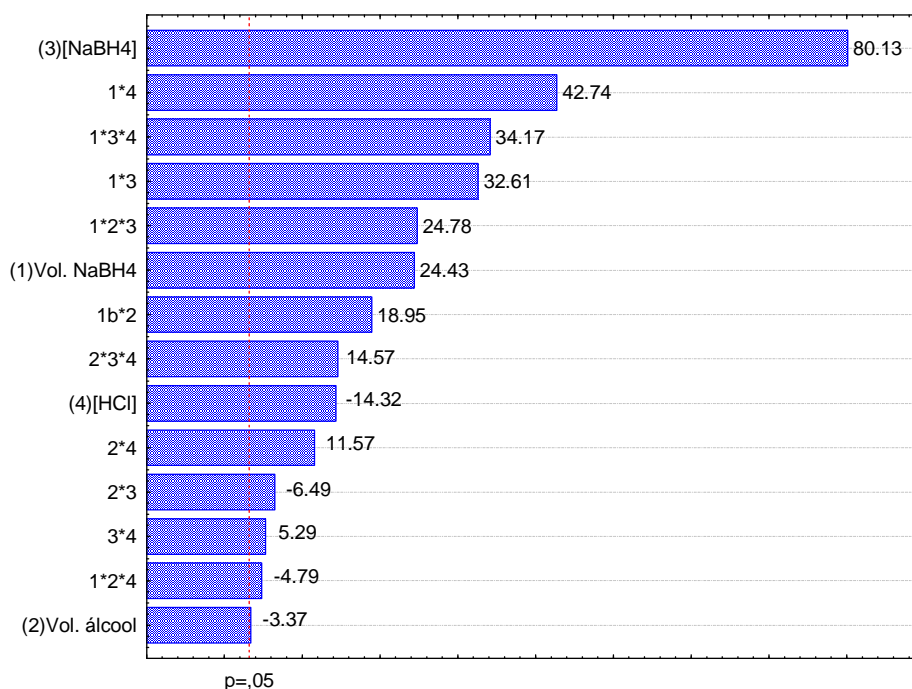
SQ: soma quadrática; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática; Valor p: nível de probabilidade.

Apesar da falta de ajuste do modelo, interpretações foram realizadas para indicar o sentido em que o planejamento original deveria ser deslocado, para, por fim, alcançar as condições ótimas experimentais aplicando o planejamento Box-Behnken.

De acordo com a tabela ANOVA, todos os efeitos principais e de interações de segunda e terceira ordem são estatisticamente significativos, uma vez que os valores de p (probabilidade estatística) são inferiores a 0,05 ($p < 0,05$). Nessas condições, todos os fatores e suas interações, dentro dos seus respectivos domínios experimentais, exercem influência significativa sobre o sistema de geração e quantificação de Cd empregando MSFIA-CV

AAS. A significância dos efeitos das variáveis e das interações entre elas também podem ser visualizadas de forma rápida e clara através do gráfico de Pareto (Figura 9), no qual todas as barras horizontais dos fatores e das interações ultrapassam a linha vertical vermelha correspondente a um nível de confiança de 95%.

Figura 9 - Gráfico de Pareto em função dos valores da estatística de teste t para os fatores principais estudados no sistema para a determinação de Cd por MSFIA-CV AAS

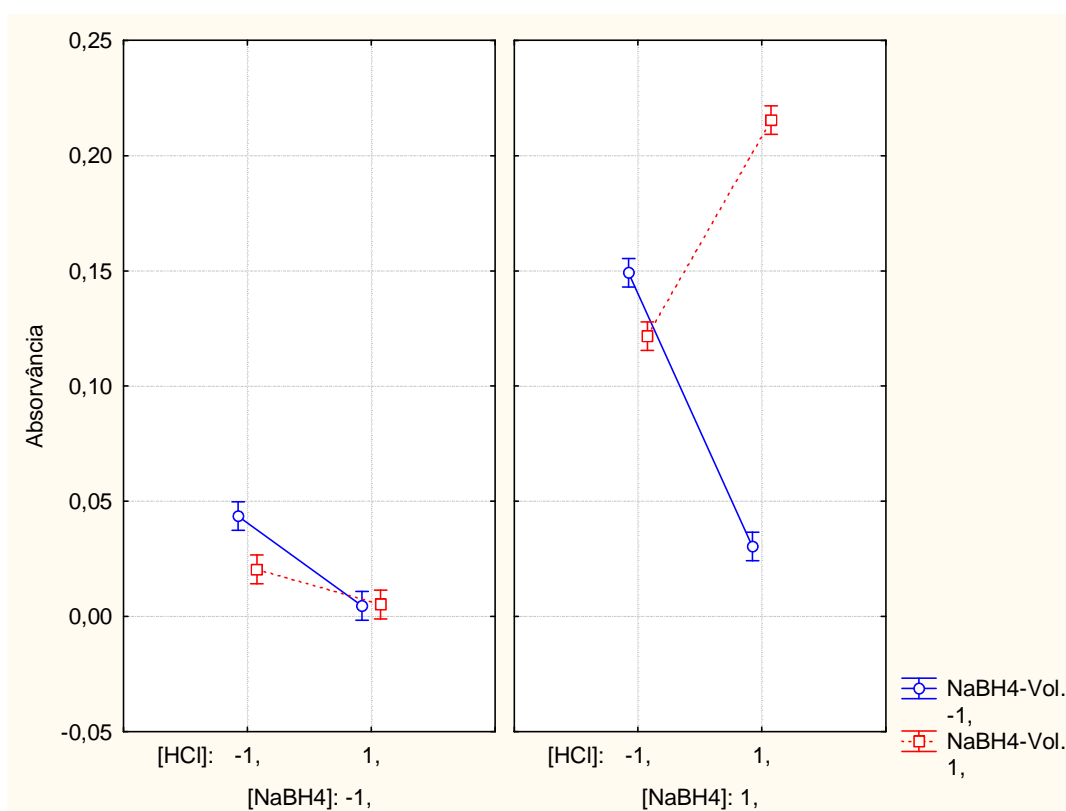


Esses resultados além de revelarem a significâncias dos efeitos dos fatores, informam a intensidade dessa significância e a característica (positiva ou negativa) desses efeitos. O fator mais significativo, ou seja, aquele que mais influenciou a geração e determinação de cádmio foi a concentração de NaBH₄. Este fator apresentou um efeito positivo ($0,1107 \pm 0,0044$), indicando que o seu aumento favorece a geração de vapor frio de Cd, que por sua vez aumenta a resposta analítica em termos de absorvância. De fato, a concentração de NaBH₄ é um fator muito importante para o processo, uma vez que o mesmo é parte integrante da reação de geração de vapor frio de cádmio.

O volume do agente redutor, NaBH₄, foi o segundo fator mais significativo com efeito positivo ($0,0338 \pm 0,0044$), seguido pela concentração de HCl, a

qual apresentou um efeito negativo ($-0,0198 \pm 0,0044$), indicando que à medida que a sua concentração diminui, a resposta analítica em termos de absorvância aumenta. Porém, esse fator não pode ser avaliado isoladamente, uma vez que as suas interações com outros fatores - ($[HCl] \times Vol.NaBH_4$) e ($[HCl] \times [NaBH_4] \times Vol.NaBH_4$) - também foram significativas, porém de efeito positivo. Isso tudo revela na verdade que a diminuição da concentração de HCl pode aumentar ou diminuir a resposta, dependendo dos outros fatores significativos envolvidos, como pode ser visualizado pelo gráfico das médias marginais (Figura 10).

Figura 10 - Gráfico das medias marginais envolvendo os fatores [HCl], [NaBH₄] e Vol.NaBH₄



Nesse gráfico é possível observar que quando se trabalha nos níveis superiores de [NaBH₄] e volume de NaBH₄, a diminuição da concentração de HCl provoca a redução do sinal de absorvância e que maiores valores de ABS são alcançados quando todos os fatores estão no seu nível superior.

O álcool isoamílico isoladamente não foi muito significativo, porém suas interações com os outros fatores foram significativas, uma vez que permitiu

trabalhar com condições extremas sem que houvesse formação intensa de espuma, a qual diminui o sinal de ABS ou até mesmo inviabiliza a análise.

Em relação aos fatores concentração e volume de NaBH_4 , uma informação adicional e pertinente pode ser realizada através da observação da matriz de experimentos (Tabela 22). Nessa matriz é possível verificar que diferentes combinações de concentração e volume de NaBH_4 , introduzem em alguns momentos massas iguais de NaBH_4 , como pode ser observado na Tabela 24.

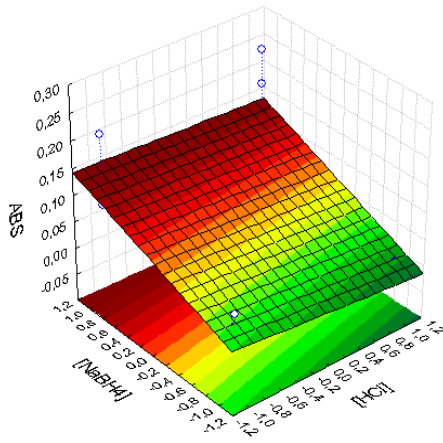
Tabela 24 - Relação entre a condição de introdução de uma certa massa de NaBH_4 e o sinal de ABS

Experimento	$[\text{NaBH}_4]$ % (m/v)	Volume NaBH_4 (mL)	Massa de NaBH_4 introduzida	ABS
2	2	4	0,08 g	0,0233
5	4	2	0,08 g	0,2139
4	2	4	0,08g	0,0175
7	4	2	0,08 g	0,0843
10	2	4	0,08 g	0,0060
13	4	2	0,08 g	0,0396
12	2	4	0,08 g	0,0043
15	4	2	0,08 g	0,0211

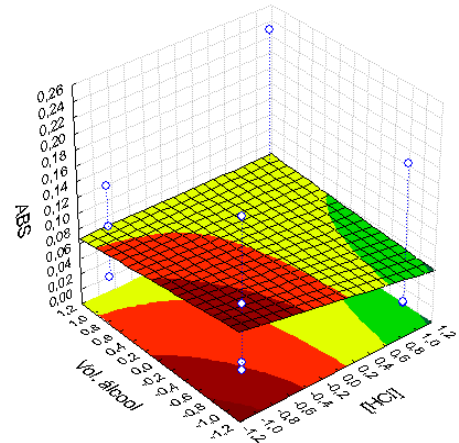
A partir dos dados expostos pode-se inferir que a condição de introdução de uma certa massa de NaBH_4 exerce influência sobre o sinal de absorvância, uma vez que maiores sinais analíticos foram obtidos quando foi introduzido pequenos volumes de soluções concentradas de NaBH_4 . Isto ocorre provavelmente porque o emprego de maiores volume de NaBH_4 aumenta a barreira da fase líquida, que por sua vez afeta a eficiência de liberação da espécie volátil gerada.

De acordo com as superfícies de respostas (Figura 11), é possível inferir que maiores respostas analíticas (ABS) são obtidas quando se utiliza, dentro do domínio experimental trabalhado, maiores concentrações e volumes de NaBH_4 , que por sua vez requerem maiores concentração de HCl e volume de álcool.

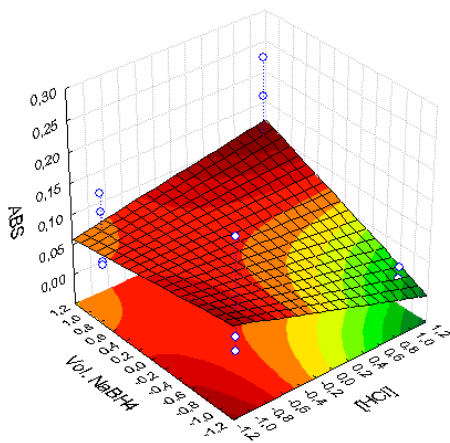
Figura 11 - Superfícies de resposta para os dados do planejamento fatorial completo (a) = (ABS x $[\text{NaBH}_4]$ x $[\text{HCl}]$), (b) = (ABS x Vol. álcool x $[\text{HCl}]$), (c) = (ABS x Vol. NaBH_4 x $[\text{HCl}]$), (d) = (ABS x Vol. álcool x $[\text{NaBH}_4]$), (e) = (ABS x Vol. NaBH_4 x Vol. álcool) e (f) = (ABS x Vol. NaBH_4 x $[\text{NaBH}_4]$).



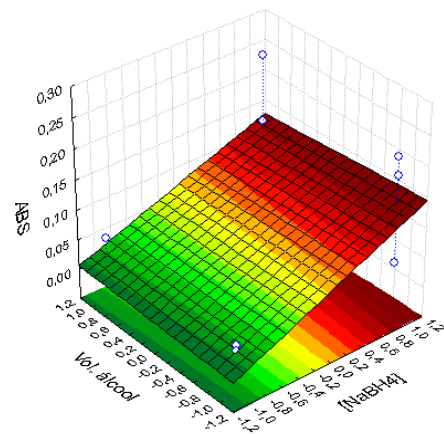
(a)



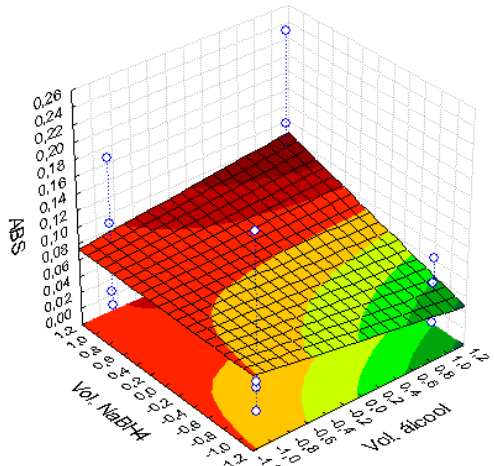
(b)



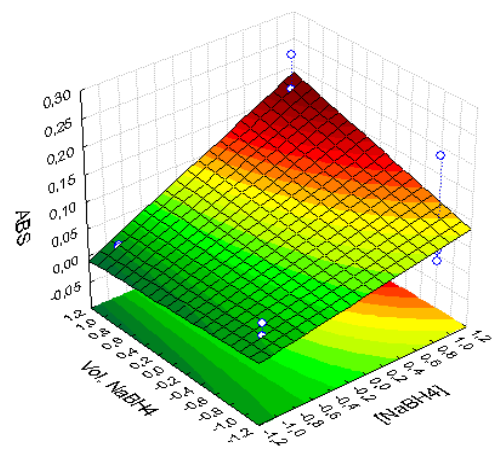
(c)



(d)



(e)



(f)

A partir das interpretações realizadas, foi escolhido o novo domínio experimental para a execução de um planejamento Box-Behnken, a fim de determinar as condições ótimas para cada fator em estudo.

PLANEJAMENTO BOX-BEHNKEN

A determinação das condições experimentais ótimas para a geração de vapor frio e determinação de Cd empregando o sistema MSFIA-CV AAS foi feita realizando um planejamento Box-Behnken envolvendo as quatro variáveis anteriormente avaliadas no planejamento fatorial completo. A matriz de experimentos apresenta 27 ensaios, sendo que os mesmos foram executados utilizando 2 mL de solução padrão de Cd $5 \mu\text{g L}^{-1}$, argônio a uma vazão de 110 mL min^{-1} e HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ como agente carreador de amostra. A vazão de introdução de NaBH_4 foi fixada em 6 mL min^{-1} e foi utilizado somente um separador gás-líquido conectado a célula de quartzo por um tubo de 30 cm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro interno.

A matriz de planejamento com níveis em valores reais e codificados está apresentada na Tabela 25.

Tabela 25 - Matriz de experimentos e resultados do planejamento Box-Behnken para determinação de cádmio empregando MSFIA-CV AAS

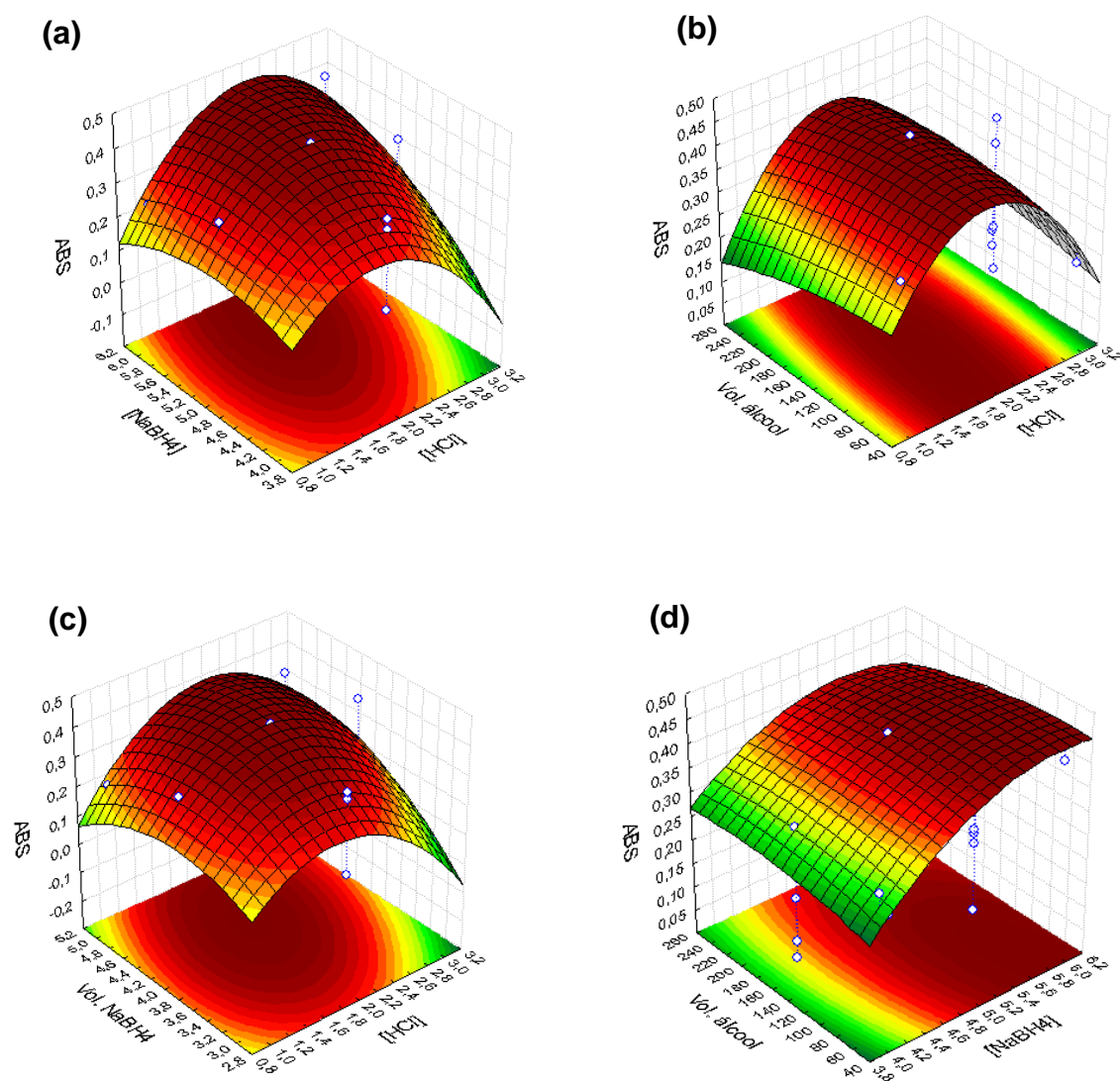
Experimento	[HCl] mol L ⁻¹	[NaBH ₄] % (m/v)	Vol. álcool μL	Vol. NaBH ₄ mL	ABS
1	- 1 (1)	- 1 (4)	0 (150)	0 (4)	0,1869
2	1 (3)	- 1 (4)	0 (150)	0 (4)	0,0611
3	- 1 (1)	1 (6)	0 (150)	0 (4)	0,2410
4	1 (3)	1 (6)	0 (150)	0 (4)	0,4001
5	0 (2)	0 (5)	- 1 (50)	- 1 (3)	0,3478
6	0 (2)	0 (5)	1 (250)	- 1 (3)	0,2987
7	0 (2)	0 (5)	- 1 (50)	1 (5)	0,3561
8	0 (2)	0 (5)	1 (250)	1 (5)	0,3532
9 (PC)	0 (2)	0 (5)	0 (150)	0 (4)	0,4407
10	- 1 (1)	0 (5)	0 (150)	- 1 (3)	0,2037
11	1 (3)	0 (5)	0 (150)	- 1 (3)	0,0619
12	- 1 (1)	0 (5)	0 (150)	1 (5)	0,2101
13	1 (3)	0 (5)	0 (150)	1 (5)	0,3432
14	0 (2)	- 1 (4)	- 1 (50)	0 (4)	0,3168
15	0 (2)	1 (6)	- 1 (50)	0 (4)	0,4107
16	0 (2)	- 1 (4)	1 (250)	0 (4)	0,3627
17	0 (2)	1 (6)	1 (250)	0 (4)	0,3874
18 (PC)	0 (2)	0 (5)	0 (150)	0 (4)	0,4236
19	- 1 (1)	0 (5)	- 1 (50)	0 (4)	0,3288
20	1 (3)	0 (5)	- 1 (50)	0 (4)	0,1902
21	- 1 (1)	0 (5)	1 (250)	0 (4)	0,2273
22	1 (3)	0 (5)	1 (250)	0 (4)	0,2123
23	0 (2)	- 1 (4)	0 (150)	- 1 (3)	0,0973
24	0 (2)	1 (6)	0 (150)	- 1 (3)	0,3712
25	0 (2)	- 1 (4)	0 (150)	1 (5)	0,3330
26	0 (2)	1 (6)	0 (150)	1 (5)	0,3526
27 (PC)	0 (2)	0 (5)	0 (150)	0 (4)	0,4089

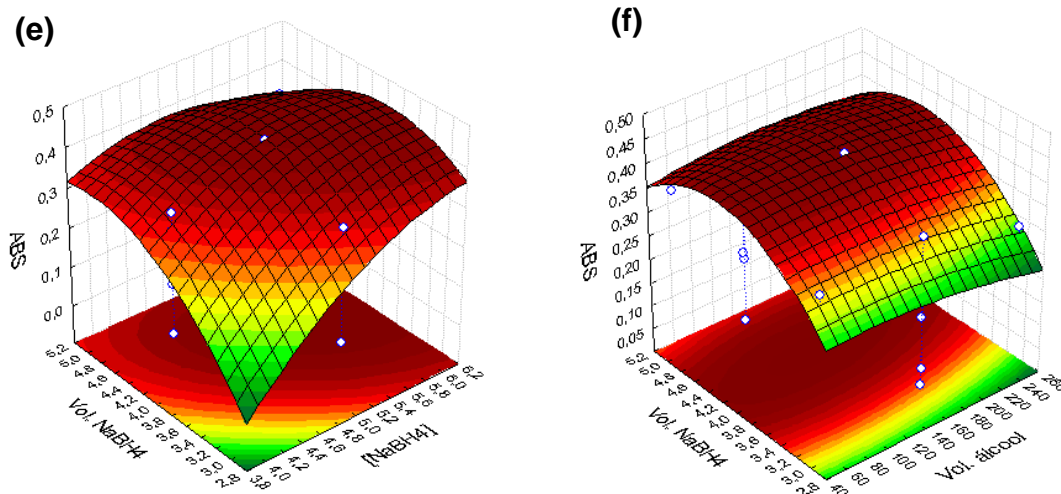
(PC) - Ponto Central

Com as respostas analíticas em absorvância, foram gerados: superfícies de resposta (Figura 12) e um modelo matemático que relaciona os fatores em estudo com a absorvância (Equação 18).

As superfícies de resposta obtidas e apresentadas abaixo (Figura 12) revelam a região de máximo (ABS máxima) para a combinação de dois fatores.

Figura 12 - Superfícies de resposta para os dados do planejamento Box-Behnken (a) = (ABS x $[\text{NaBH}_4]$ x $[\text{HCl}]$), (b) = (ABS x Vol. álcool x $[\text{HCl}]$), (c) = (ABS x Vol. NaBH_4 x $[\text{HCl}]$), (d) = (ABS x Vol. álcool x $[\text{NaBH}_4]$), (e) = (ABS x Vol. NaBH_4 x $[\text{NaBH}_4]$) e (f) = (ABS x Vol. NaBH_4 x Vol. álcool)





O modelo matemático que relaciona os fatores envolvidos na otimização (concentração de HCl, de NaBH₄ e volume de NaBH₄ e de álcool isoamílico) com a resposta em termos de absorvância, está representado pela Equação 18, na qual os termos significativos estão destacados em vermelho. O modelo quadrático foi construído utilizando valores codificados do planejamento.

$$\begin{aligned}
 \text{ABS} = & 0,4244 - 0,0107 ([\text{HCl}]) - 0,1561 ([\text{HCl}])^2 + 0,0671 ([\text{NaBH}_4]) - 0,0493 \\
 & ([\text{NaBH}_4])^2 - 0,0091 (\text{V. álcool}) - 0,0154 (\text{V. álcool})^2 + 0,0473 (\text{V. NaBH}_4) - \\
 & 0,0733 (\text{V. NaBH}_4)^2 + 0,0712 ([\text{HCl}])([\text{NaBH}_4]) + 0,0309 ([\text{HCl}])(\text{V. álcool}) + \\
 & 0,06872 ([\text{HCl}])(\text{V. NaBH}_4) - 0,0173 ([\text{NaBH}_4])(\text{V. álcool}) - 0,0636 ([\text{NaBH}_4])(\text{V.} \\
 & \text{NaBH}_4) + 0,0115 (\text{V. álcool})(\text{V. NaBH}_4)
 \end{aligned} \tag{18}$$

A derivação desse modelo matemático para cada fator resultou em um sistema de equações, cujas resoluções geraram uma condição de máximo de absorvância para cada fator, em valores codificados. Os valores críticos codificados e reais para cada fator estão apresentados na Tabela 26, sendo que os valores reais foram obtidos a partir dos valores codificados, empregando a Equação 19.

$$C = \left| \frac{(X_i - X_i^0)}{C_{xi}} \right| \cdot K \quad (19)$$

Onde,

C é o valor codificado, X_i é o valor real, X_i^0 é o valor real do ponto central, C_{xi} é a diferença entre o valor real superior e o central do planejamento e K é o valor codificado máximo que a variável assume no planejamento.

Tabela 26 - Valores críticos codificados e reais dos fatores otimizados utilizando planejamento Box-Behnken

Fator	Valores codificados	Valores reais
Concentração de HCl	0,0789	2,08 mol L ⁻¹
Concentração de NaBH₄	0,9476	5,95 % (m/v)
Volume de álcool	-0,7872	71,28 µL
Volume de NaBH₄	-0,1133	3,89 mL

Os valores reais adotados e empregados como ótimos para a quantificação de Cd empregando MSFIA-CV AAS foram:

$$[\text{HCl}] = 2 \text{ mol L}^{-1}$$

$$[\text{NaBH}_4] = 6 \% \text{ (m/v)}$$

$$\text{Volume de álcool} = 70 \text{ µL}$$

$$\text{Volume de NaBH}_4 \text{ 6 \% (m/v)} = 4 \text{ mL}$$

Uma Análise de Variância (Tabela 27) indicou que os dados obtidos são satisfatoriamente descritos pelo modelo matemático quadrático estabelecido, ou seja, não houve falta de ajuste ($p\text{-valor} = 0,0964 > 0,05$).

Tabela 27 - Análise da variância (ANOVA) para os dados apresentados na Tabela 25

	SQ	GI	MQ	F	p-valor
(1) [HCl] L+Q	0,131394	2	0,065697	259,3742	0,003841
(2) [NaBH₄] L+Q	0,067020	2	0,033510	132,2990	0,007502
(3) Vol. álcool L+Q	0,002260	2	0,001130	4,4617	0,183092
(4) Vol. NaBH₄ L+Q	0,055545	2	0,027773	109,6476	0,009038
(1) x (2)	0,020292	1	0,020292	80,1137	0,012253
(1) x (3)	0,003819	1	0,003819	15,0785	0,060376
(1) x (4)	0,018893	1	0,018893	74,5884	0,013143
(2) x (3)	0,001197	1	0,001197	4,7264	0,161748
(2) x (4)	0,016167	1	0,016167	63,8285	0,015308
(3) x (4)	0,000534	1	0,000534	2,1067	0,283765
Falta de ajuste	0,024717	10	0,002472	9,7584	0,096464
Erro puro	0,000507	2	0,000253		
SQ total	0,313353	26			

SQ: soma quadrática; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática; Valor p: nível de probabilidade.

3.4.1.2 Otimização dos fatores secundários

Os fatores secundários selecionados para estudo foram: a vazão de introdução de NaBH₄ e a vazão de argônio (gás carreador). Os experimentos foram executados utilizando os valores críticos dos fatores principais anteriormente otimizados e empregando por análise 2 mL de uma solução de Cd 5 µg L⁻¹ em HCl 2 mol L⁻¹. O agente carreador da amostra utilizado foi o ácido clorídrico 0,05 mol L⁻¹ e todos os experimentos foram realizados empregando somente um separador gás-líquido conectado a célula de quartzo por um tubo de 30 cm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro interno.

PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO (2^2)

A matriz de planejamento requerida para a execução dos experimentos, juntamente com os valores reais e codificados e os resultados, está representada na Tabela 28.

Tabela 28 - Matriz de experimentos e resultados do planejamento fatorial completo (2^2) para determinação de cádmio empregando MSFIA-CV AAS

Experimento	Vazão de NaBH_4 (mL min^{-1})	Vazão de argônio (mL min^{-1})	ABS
1	- 1 (3,5)	- 1 (70)	0,2347
2	- 1 (3,5)	1 (150)	0,3595
3	1 (7,5)	- 1 (70)	0,3958
4	1 (7,5)	1 (150)	0,5148
05 (PC)	0 (5,5)	0 (110)	0,4111
06 (PC)	0 (5,5)	0 (110)	0,3994
07 (PC)	0 (5,5)	0 (110)	0,4394

(PC) - Ponto Central

Os resultados do planejamento fatorial completo (2^2) foram avaliados utilizando o programa STATISTICA 8.0. Foram obtidos um gráfico de pareto (Figura 13) e um plano descrito pela equação linear (Figura 14), o qual relaciona os fatores com a resposta em absorvância.

Figura 13 - Gráfico de pareto em função dos valores da estatística de teste t do planejamento fatorial completo envolvendo os fatores secundários

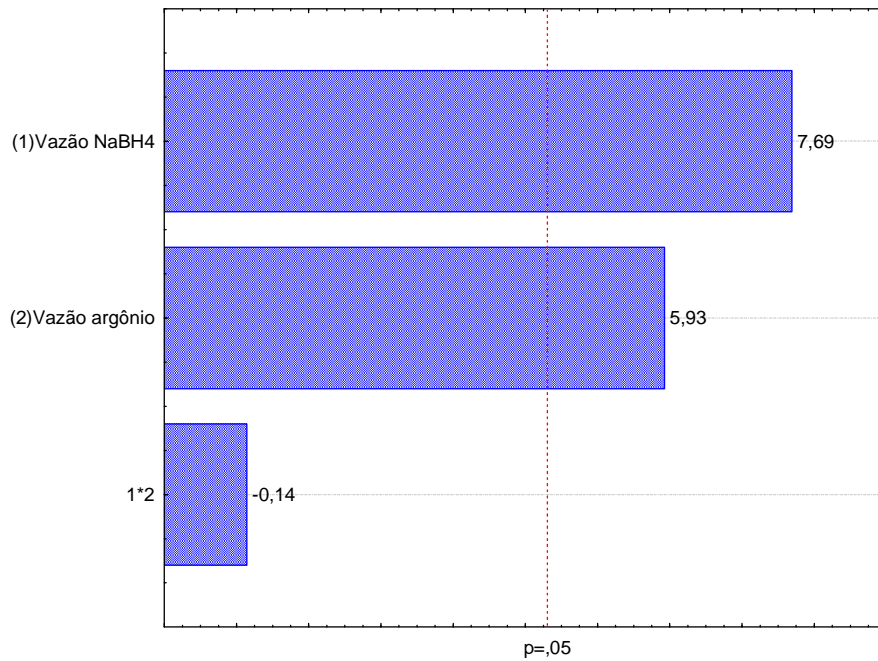
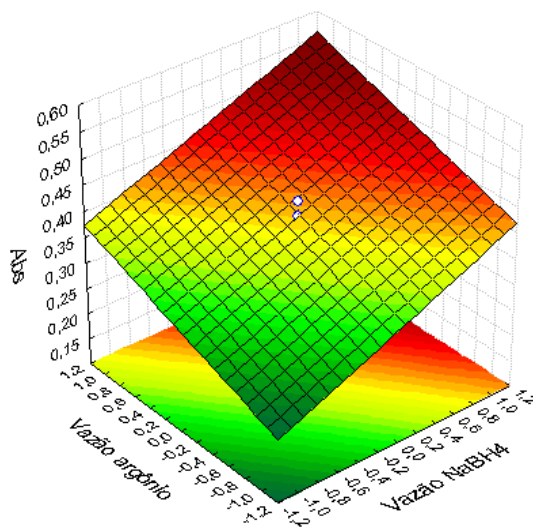


Figura 14 - Superfície de resposta (ABS x vazão de argônio x vazão de NaBH₄)



De acordo com o gráfico de pareto e a superfície de resposta foi possível concluir que os fatores (vazão de argônio e de NaBH₄) exercem isoladamente influência significativa sobre o sistema, dentro do domínio experimental avaliados. Ambos fatores apresentaram um efeito significativo positivo,

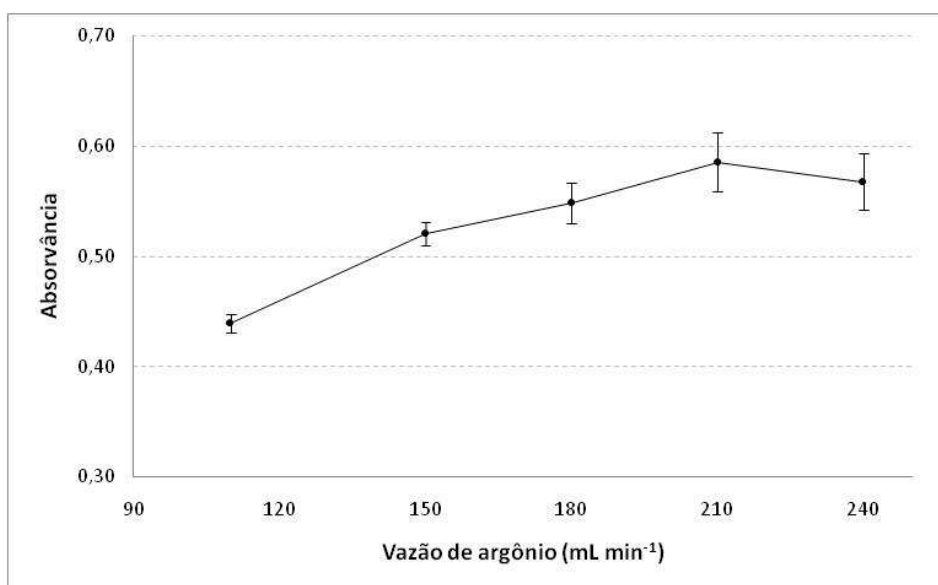
indicando que maiores sinais analíticos (ABS) são obtidos quando são empregados maiores valores de vazões.

A vazão de introdução de NaBH_4 foi ligeiramente mais significativa e com efeito positivo ($0,1582 \pm 0,0885$). Porém, por limitação do sistema não foi possível investigar valores maiores que o do domínio experimental avaliado. Dessa forma, a vazão de NaBH_4 foi fixada em $7,5 \text{ mL min}^{-1}$, nível superior do planejamento.

A vazão de argônio que também influenciou o sistema positivamente (efeito: $0,1219 \pm 0,0885$) foi submetida a um estudo univariado. Esse estudo teve como objetivo encontrar uma condição que promovesse menores perdas e/ou atrasos durante o transporte do vapor de cádmio para a célula de quartzo situada no sistema de detecção e que também evitasse diluição e diminuição do tempo de residência do analito no caminho óptico, o que ocorre quando vazões elevadas são empregadas.

Na Figura 15 é apresentado graficamente o estudo univariado para a concentração a vazão de argônio.

Figura 15 - Representação gráfica do estudo univariado para a vazão de argônio



De acordo com os resultados do estudo univariado foi possível concluir que a vazão de argônio em 210 mL min^{-1} promoveu, de forma eficiente, o

transporte do vapor de cádmio para o sistema de detecção, levando a maiores valores de absorvância. Porém, nessa condição o sistema é operado com muita turbulência e promove o transporte de gotas da solução para a célula de quartzo, que com o tempo se acumulam na mesma, inviabilizando análises prolongadas. Assim, com o objetivo de combinar a eficiência de transporte do vapor de Cd com um sistema menos turbulento, a vazão de argônio de 150 mL min⁻¹ foi selecionada como ideal. Essa condição é menor (até 3 vezes mais baixa) do que a vazão normalmente empregada em métodos baseados na geração de vapor frio reportados na literatura, provavelmente porque a vazão de hidrogênio proveniente da decomposição de NaBH₄ foi relativamente alta (sem comprometer o sinal analítico), o que ajudou efetivamente o transporte do analito para o sistema de detecção, requerendo assim uma vazão menor de argônio.

Apesar do pouco transporte de gotículas da solução para célula de quartzo fixando a vazão do gás em 150 mL min⁻¹, ainda foi observado, com o tempo, um ligeiro acúmulo de líquido na célula de quartzo que comprometia a reprodutibilidade dos dados. Em virtude disso, foi realizado um experimento para verificar a viabilidade do uso de um segundo separador gás-líquido, de tamanho reduzido, entre o primeiro separador gás-líquido e a célula de quartzo. Esse segundo separador, tinha como objetivo impedir a passagem de gotículas para a célula de quartzo, as quais passariam a se acumular na parte inferior do separador e não mais na célula de quartzo. A cada análise, a camada líquida era removida ao ativar uma micro-bomba conectada à parte inferior do separador através de um tubo de 0,8 mm de diâmetro interno.

O emprego do segundo separador gás-líquido apresentou-se eficiente, no que diz respeito a diminuição do transporte de gotículas para a célula de quartzo, o que promoveu aumento do sinal analítico em absorvância e maior reprodutibilidade.

3.4.1.3 Resumo das condições do sistema para geração e detecção de cádmio empregando MSFIA-CV AAS

As condições experimentais estabelecidas para a determinação de

cádmio empregando o sistema MSFIA-CV AAS, estão apresentadas na Tabela 29.

Tabela 29 - Resumo das condições gerais para geração e determinação de Cd empregando MSFIA-CV AAS

Parâmetros otimizados	Condição experimental
[HCl]	2 mol L ⁻¹
[NaBH ₄]	6 % (m/v)
Volume álcool isoamílico	70 µL
Volume de NaBH₄	4 mL
Vazão de NaBH₄	7,5 mL min ⁻¹
Vazão de argônio	150 mL min ⁻¹
Parâmetros gerais	Condição experimental
Vazão dos reagentes	7,5 mL min ⁻¹
Agente carreador da amostra	HCl 0,05 mol L ⁻¹
Volume de amostra	2 mL

Nessas condições e utilizando dois separadores gás-líquido, obteve-se os seguintes perfis de pico para uma solução de cádmio 5 µg L⁻¹ (Figura 16) e para um branco (Figura 17).

Figura 16 - Sinal analítico para uma solução de cádmio $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Absorvância por altura de pico equivalente a $0,699 \pm 0,008$

Method: Cd

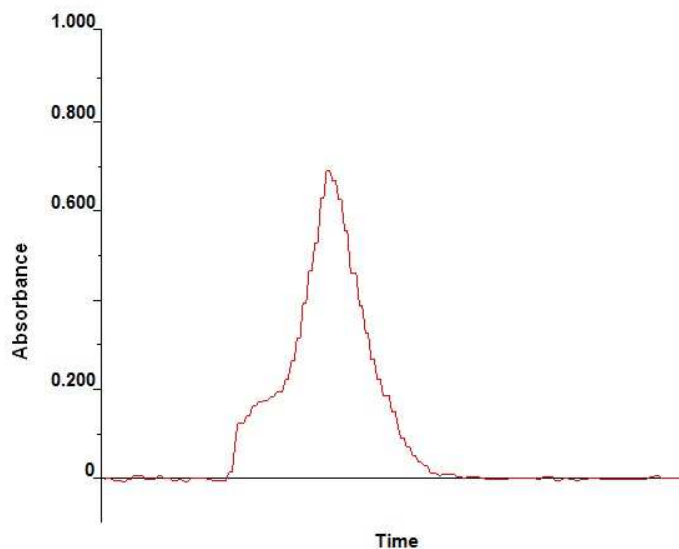
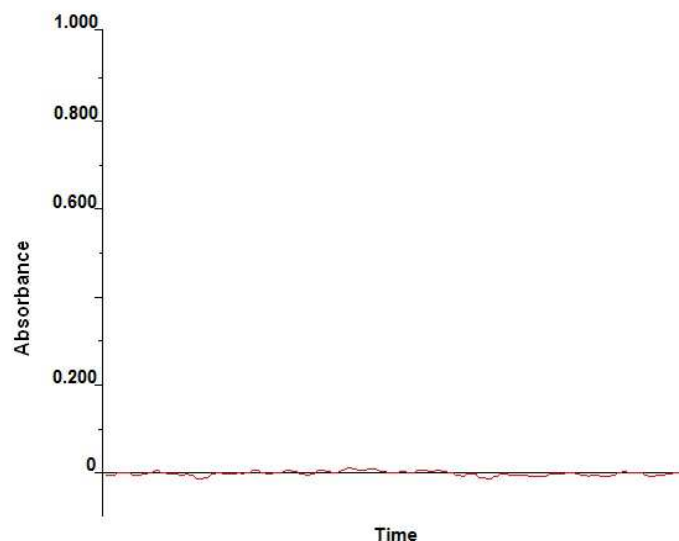


Figura 17 - Perfil do pico de um branco analítico. Absorvância medida equivalente a 0,006

Method: Cd



O ombro do pico está provavelmente relacionado com o processo de geração/liberação, o qual é caracterizado por um pulso inicial de reação com vigorosa liberação de hidrogênio.

Nessas condições de trabalho, foram obtidos limites de detecção e quantificação equivalentes a 12 e 40 ng L⁻¹, respectivamente. A sensibilidade do método, empregando essas condições, foi de (0,134 ± 0,008) L µg⁻¹ e a faixa linear, que consiste na extensão da aplicabilidade do método, se estendeu de 0,04 a 10 µg L⁻¹. A precisão expressa em termos de desvio padrão relativo (RSD %), calculado a partir de 7 medidas consecutivas de padrão foi de 4,6; 3,5 e 1,0 % para soluções de Cd de 0,05; 0,5 e 5 µg L⁻¹, respectivamente.

3.4.1.4 Estudo para aumento da sensibilidade do método proposto para determinação de cádmio

Com o objetivo de aumentar a sensibilidade do método, foi realizado um estudo empregando alguns complexantes, os quais foram introduzidos na célula reacional (separador gás-líquido - GL1) juntamente com o agente transportador da amostra, HCl 0,05 mol L⁻¹.

Os aditivos têm como finalidade melhorar a eficiência e seletividade da geração de vapor frio e hidretos, sendo os mesmos criteriosamente selecionados para cada elemento. Os reagentes investigados neste trabalho foram: tiouréia, sulfanilamida e L-cisteína. Para tanto, os experimentos preliminares envolveram como parâmetro de comparação a absorvância obtida empregando solução de cádmio 0,5 µg L⁻¹ e alguns complexantes a uma concentração de 0,5% (m/v). Os resultados estão apresentados na Tabela 30.

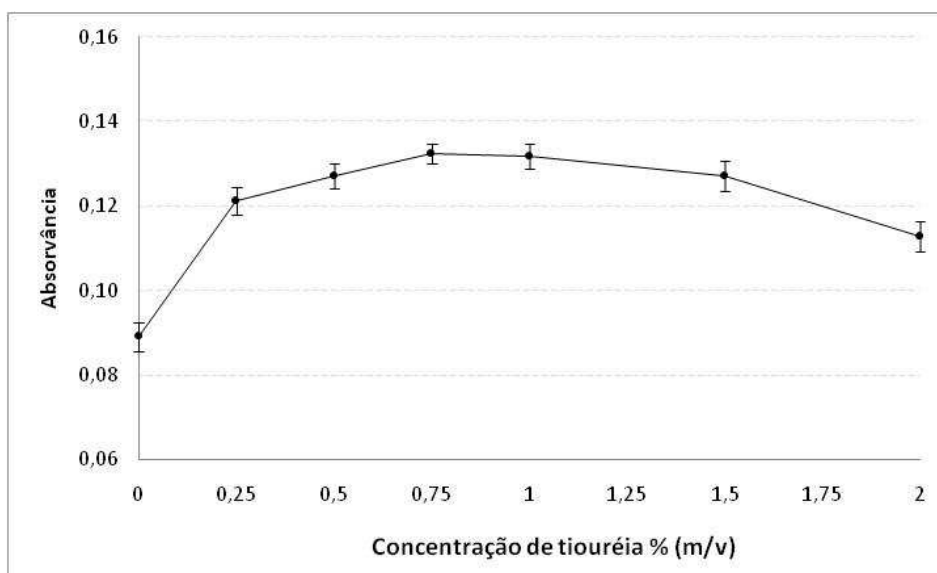
Tabela 30 - Avaliação do efeito da adição de complexantes sobre sinal analítico (ABS) de cádmio

	Sem aditivo	Tiouréia 0,5 % (m/v)	Sulfanilamida 0,5 % (m/v)	L-cisteína 0,5 % (m/v)
ABS Cd (0,5 µg L⁻¹)	0,085 ± 0,022	0,140 ± 0,010	0,119 ± 0,012	0,002 ± 0,001

De acordo com os resultados obtidos, o reagente que mais favoreceu a geração e determinação de cádmio empregando o sistema MSFIA-CV AAS, na concentração investigada, foi a tiouréia. A L-cisteína na concentração investigada, pelo contrário, provocou a supressão do sinal. Foi então realizado um estudo univariado envolvendo diversas concentrações de tiouréia. As soluções de tiouréia preparadas em HCl 0,05 mol L⁻¹ foram introduzidas na célula reacional na seringa utilizada para o agente carreador da amostra.

Na Figura 18 é representado graficamente o estudo univariado para a concentração de tiouréia.

Figura 18 - Estudo univariado do efeito da concentração de tiouréia sobre o sinal analítico (ABS) empregando solução de cádmio 0,5 µg L⁻¹



De posse dos resultados, a concentração de tiouréia selecionada para alcançar uma maior sensibilidade foi: 0,75 % (m/v). A partir de então, foi adotado como agente carreador da amostra uma solução de tiouréia 0,75% preparada em HCl 0,05 mol L⁻¹. As condições finais empregadas na geração e determinação de Cd em águas naturais utilizando MSFIA-CV AAS estão apresentadas na Tabela 31.

Tabela 31 - Condições finais empregadas na geração e determinação de Cd em água naturais usando o sistema MSFIA-CV AAS

Parâmetros otimizados	Condição experimental
[HCl]	2 mol L ⁻¹
[NaBH₄]	6 % (m/v)
Volume álcool isoamílico	70 µL
Volume de NaBH₄	4 mL
Vazão de NaBH₄	7,5 mL min ⁻¹
Vazão de argônio	150 mL min ⁻¹
Parâmetros gerais	Condição experimental
Vazão dos reagentes	7,5 mL min ⁻¹
Agente carreador da amostra	Tiouréia 0,75% (m/v) em HCl 0,05 mol L ⁻¹
Volume de amostra	2 mL

3.4.2 Validação do método analítico

No processo de validação do método analítico proposto para a determinação de cádmio, foi determinada uma série de parâmetros, a fim de demonstrar que o mesmo é adequado para o seu propósito, no contexto do problema analítico considerado. Os parâmetros avaliados foram: limites de detecção e quantificação, linearidade, faixa de trabalho, exatidão, precisão, recuperação, sensibilidade e técnica de calibração. Todos eles foram determinados, operando o sistema com as condições ótimas finais.

Os limites de quantificação e de detecção são fatores importantíssimos em métodos para análise de traços. O limite de detecção representa a menor concentração que proporciona um sinal de branco significativamente diferente

do sinal instrumental, ou seja, a menor concentração que pode ser detectada mas não necessariamente quantificada. Já o limite de quantificação consiste na menor concentração de analito que pode ser medida, com determinado grau de confiança [98]. Neste trabalho, os limite de detecção e quantificação foram calculados levando em consideração, o parâmetro da curva analítica (coeficiente angular) e o desvio padrão da leitura de 15 brancos.

Os limites de detecção e quantificação obtidos no trabalho proposto, determinação de cádmio empregando o sistema MSFIA-CV AAS, foram: **6 e 19 ng L⁻¹**, respectivamente. O limite de detecção obtido é similar aos obtidos por métodos baseados em geração de vapor frio com etapas de pré-concentração [72,83,84,85] e até uma ordem de grandeza menor do que os obtidos com sistemas FIA-CV AAS [69,80]. Os baixos limites alcançados evidenciam a grande aplicabilidade desse método, sem a necessidade do emprego de processos demorados como a pré-concentração.

A linearidade de um método corresponde a capacidade que este tem em responder linearmente às concentrações das espécies em uma determinada faixa de aplicação [105]. Nesse trabalho, a curva analítica obtida usando padrões aquosos foi aparentemente linear até 5 µg L⁻¹, apresentando como coeficiente de correlação e determinação, os valores de: 0,9996 e 0,9992, respectivamente.

A sensibilidade é um parâmetro que revela a capacidade do método em registrar uma variação considerável da resposta ao empregar pequenas variações da concentração do analito. A sensibilidade pode ser expressa pela inclinação da curva analítica de calibração, ou seja, pelo coeficiente angular desta curva [105]. A sensibilidade do método proposto foi de (0,269 ± 0,009) L µg⁻¹, o que lhe confere a capacidade de distinguir concentrações muito próximas de cádmio. A sensibilidade foi aumentada por um fator de aproximadamente 2 ao empregar a tiouréia no meio reacional.

A faixa linear, que é um parâmetro que demonstra a extensão da aplicabilidade do método, inicia-se do limite de quantificação até a concentração a partir da qual é observado o desvio da linearidade. O método proposto nesse trabalho apresentou uma faixa linear que se estendeu de 0,02 a 5 µg L⁻¹.

A precisão é uma característica analítica que avalia o grau de dispersão de resultados de experimentos independentes obtidos pela repetição de padrões

aquosos ou amostras, sendo usualmente expressa em termos de desvio padrão relativo e em porcentagem (RSD %). Esse parâmetro normalmente é feito para diferentes concentrações do analito, uma vez que depende da concentração deste [106].

Desse modo, a precisão em termos de desvio padrão relativo (RSD %), calculada a partir de 10 medidas consecutivas de padrões aquosos pode ser visualizada na Tabela 32.

Tabela 32 - Precisão em termos de desvio padrão relativo calculada para 10 medidas de padrões aquosos de distintas concentrações

Concentração de Cd ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão (RSD %)
0,025	7,2
0,25	2,9
2,5	1,4

A precisão também foi calculada a partir de 7 medidas consecutivas de material de referência certificado de água do mar (CASS-4). A mesma em termos de RSD % foi equivalente a 5,9 % para concentrações de cádmio de $0,025 \mu\text{g L}^{-1}$.

A exatidão expressa o quão os resultados experimentais obtidos estão em concordância (aproximados) a um valor de referência aceito como o mais provável [105,106]. Normalmente, a avaliação da exatidão de um método é feita mediante a análise de um material de referência certificado (CRM), teste de adição e recuperação, ensaios interlaboratoriais, dentre outros.

Neste trabalho, a exatidão do método proposto foi avaliada mediante análise de material de referência certificado de água do mar CASS-4. O resultado ($0,0241 \pm 0,0031$) $\mu\text{g L}^{-1}$ de cádmio obtido ao analisar o CRM empregando o método proposto foi concordante com o valor certificado ($0,0260 \pm 0,0027$) $\mu\text{g L}^{-1}$. A avaliação entre os valores obtido e encontrado foi realizada mediante aplicação do teste t [98]. De acordo com esse teste, o valor de t calculado (3,05), para $n = 3$, foi menor que o valor de t tabelado para $n-1$ (4,303), o que permitiu concluir que não há diferença significativa entre o valor obtido pelo método e o valor certificado, o que, por consequência, confere

exatidão ao método

A exatidão também foi avaliada através do teste de adição e recuperação (*spike*). Para avaliar as recuperações do analito foram adicionadas quantidades conhecidas de cádmio às amostras de água do mar e de poço. Após a análise das amostras, com e sem adição de cádmio, foram obtidos os seguintes valores de recuperação (Tabela 33):

Tabela 33 - Teste de adição e recuperação de cádmio em amostras de água de mar e de poço (n=3)

Amostra	Concentração de cádmio ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrada	
Água do mar	0	$0,0271 \pm 0,0020$	-
	0,025	$0,0518 \pm 0,0113$	98,9
	0,25	$0,2802 \pm 0,0601$	101,2
Água de poço	0	$0,0321 \pm 0,0052$	-
	0,025	$0,0556 \pm 0,0094$	94,0
	0,25	$0,2815 \pm 0,0416$	99,8

Os valores de recuperação alcançados (94 a 101,2 %) tanto para os testes *spikes* realizados em água de mar como em água de poço foram satisfatórios, reforçando a exatidão do método.

A avaliação da técnica de calibração é de grande importância para a validação do método analítico, uma vez que o analito pode apresentar comportamento distinto na amostra e nos padrões aquosos devido a presença de concomitantes na matriz que podem provocar interferência. A técnica de calibração externa utilizando padrões aquoso consiste na técnica mais simples, convencional e de baixo custo, uma vez que uma única curva analítica pode ser utilizada na análise de diversas amostras de uma mesma matriz. Essa técnica só pode ser aplicada para a quantificação do analito quando não há uma diferença significativa entre a inclinação da sua curva e a inclinação da curva realizada na amostra.

Dessa forma, para avaliação do efeito de matriz e da técnica de calibração adequada para a determinação de cádmio em água do mar e de poço, foram

construídas curvas analíticas utilizando padrões aquosos e utilizando o método de calibração por adição de padrão nas amostras.

As inclinações das curvas analíticas (coeficientes angulares) obtidas para o Cd em solução padrões e na presença da amostra de água de mar e de poço estão apresentadas na Tabela 34.

Tabela 34 - Teste comparativo entre as inclinações da curva analítica usando padrões aquosos e amostras de água de mar e de poço

Curva analítica	Padrão aquoso	Em água do mar	Em água de poço
Inclinação (L μg^{-1})	(0,269 \pm 0,009)	(0,261 \pm 0,009)	(0,267 \pm 0,005)

Os resultados demonstram que não há diferença significativa entre as inclinações das curvas analíticas obtidas, evidenciando que não há efeito de matriz e que a determinação de cádmio utilizando o método proposto pode ser realizada usando a técnica de calibração externa utilizando padrões aquosos.

3.4.3 Estudo de interferência (efeito de outros íons)

Estudos foram realizados para avaliar o efeito de espécies químicas presentes em águas naturais e também de elementos químicos que formam espécies voláteis por reação com THB, sobre a geração e liberação de cádmio empregando MSFIA-CV AAS. O estudo de interferência foi realizado utilizando as condições otimizadas e em termo de sinal relativo em porcentagem.

As interferências dos metais de transição (formadores de espécies voláteis), de elementos clássicos formadores de hidretos e elementos coexistentes em matrizes aquosas complexas estão sumarizados na Tabela 35 e nas Figuras 19, 20 e 21. Os valores estão apresentados como sinal analítico relativo em porcentagem obtidos empregando soluções de cádmio 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, sem interferente e com interferente a uma concentração de 2,5; 25; 250 e 2500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 35 - Efeito de metais de transição, de elementos clássicos formadores de hidretos e de alguns elementos coexistentes em matrizes aquosas naturais na geração e liberação de vapor de cádmio

Elemento interferente	Altura de pico relativa ^a (%) para as razões entre as concentrações da espécie interferente e as de cádmio			
	1	10	100	1000
Cu (II)	106	89	43	8
Ni (II)	103	88	40	14
Zn (II)	114	108	101	97
Fe (III)	92	91	97	73
Co (II)	111	113	100	25
Pb (II)	101	74	61	51
As (III)	112	128	136	126
Sn (II)	92	81	76	75
Se (IV)	89	86	65	33
Al (III)	91	80	82	68
Ca (II)	98	99	96	94
Na (I)	99	98	101	103
Mg (II)	97	97	102	98
K (I)	100	98	103	99

^a Valores calculados através da relação entre sinal de Cd obtido na presença dos interferentes e o sinal obtido na ausência dessas espécies.

Figura 19 - Efeito de interferência de alguns metais de transição, em termos do sinal relativo de cádmio (%)

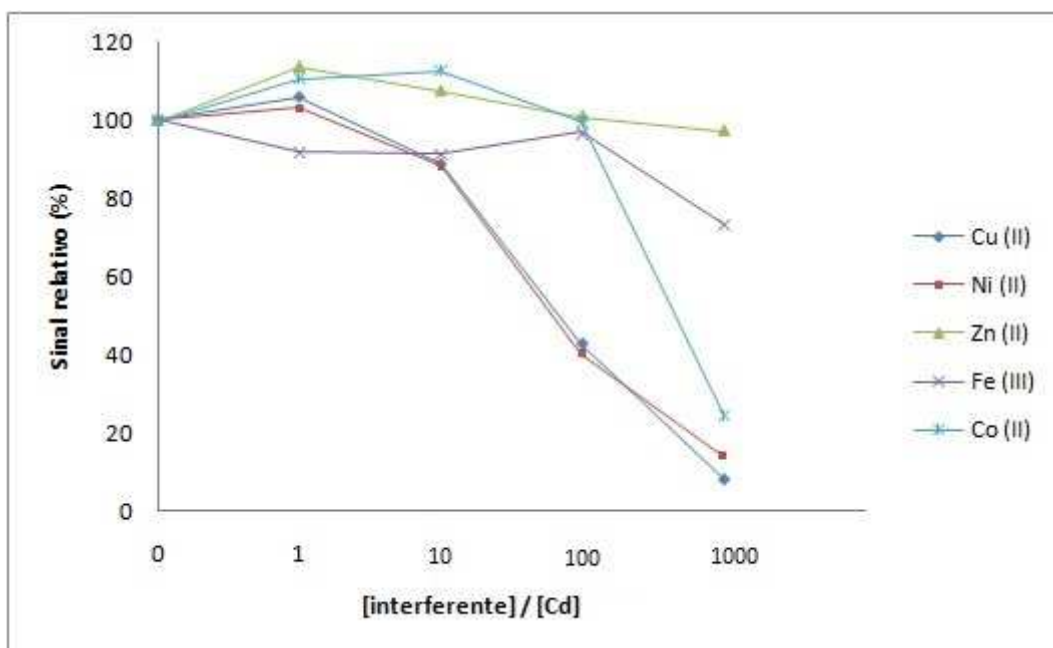


Figura 20 - Efeito de interferência de alguns elementos clássicos formadores de hidreto, em termos do sinal relativo de cádmio (%)

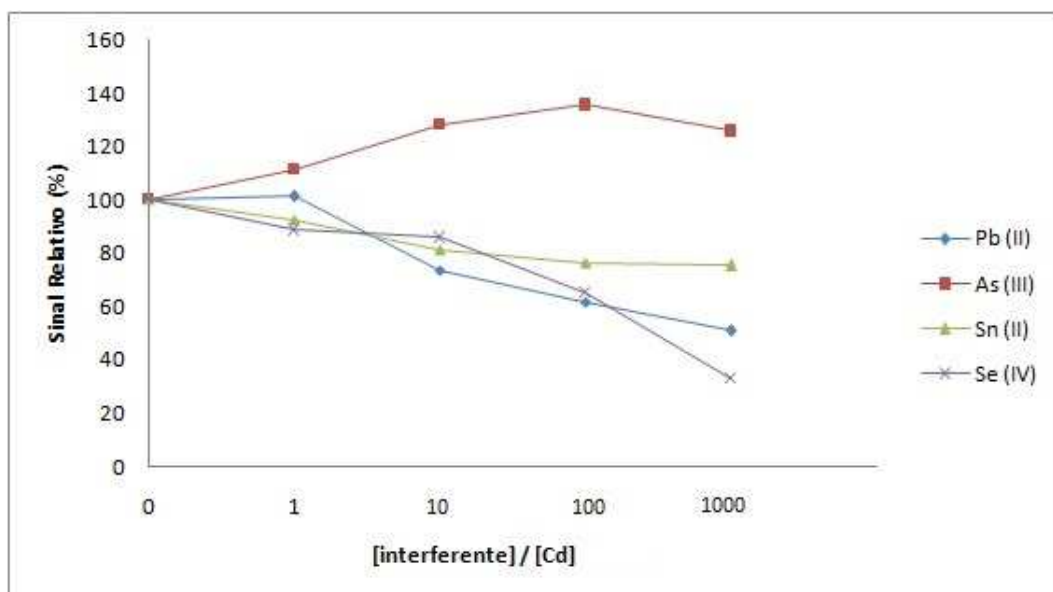
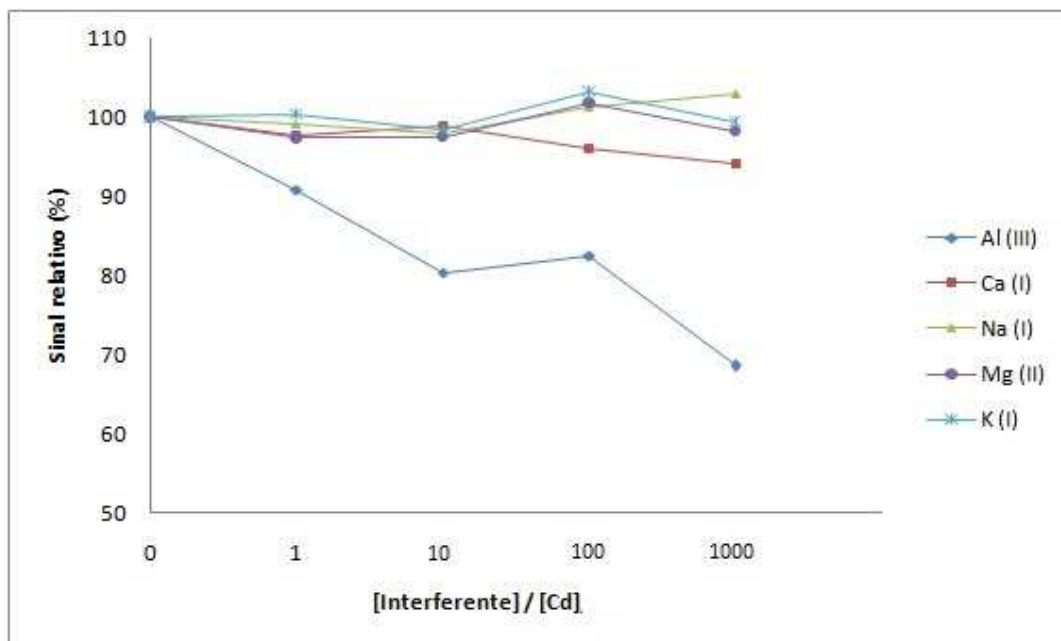


Figura 21 - Efeito de interferência de alguns elementos coexistentes em matrizes aquosas naturais, em termos do sinal relativo de cádmio (%)



De acordo com os resultados, dentre os metais de transição investigados, não foi observada depressão significativa de sinal quando Zn está em todas as concentrações avaliadas e quando Fe e Co, estão em concentrações 100 vezes maior em relação a do analito. Críticas interferências de Cu e Ni foram observadas, quando os mesmos passam a ter concentração 100 vezes maior que a do analito. Nessas condições, a depressão do sinal de cádmio é maior que 50%. Vale salientar que, tanto Zn como Co apresentaram efeito de enriquecimento quando não estão em elevadas concentrações. De fato, como já descrito por alguns trabalhos na literatura [70, 78, 95], a presença de metais de transição no meio reacional exerce um efeito catalítico no processo de geração de vapor. Chuachud e Tyson [80] observaram um aumento da sensibilidade por um fator de 2,7 quando adicionaram 1% de tiouréia e 1 mg L⁻¹ de cobalto nas amostras para a geração de vapor de Cd.

Para os estudos envolvendo os elementos formadores de hidreto clássicos, um efeito de enriquecimento foi observado para As em todas as concentrações investigadas. Já os elementos, Pb, Sn e Se, provocam redução do sinal de Cd quando estão em elevadas concentrações em relação a do

cádmio. Essas interferências podem ser explicadas pela possível reação prioritária do agente redutor (NaBH_4) com o íon interferente, consumindo-o.

Os demais elementos investigados não causaram qualquer interferência, até quando concentrações tão altas quanto $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ foram empregadas, com exceção do Al que provocou significativa redução do sinal de Cd quando utilizado em altas concentrações.

3.4.4 Aplicação do método proposto para a determinação de cádmio em amostras de águas naturais

O método proposto MSFIA-CV AAS para a determinação de cádmio em amostras de águas complexas foi aplicado em 12 amostras de água de poço coletadas em diversas regiões da ilha de Mallorca (Ilhas Baleares, Espanha) e em 5 amostras de água de mar coletadas na cidade de Palma de Mallorca (Ilhas Baleares, Espanha). Os resultados, expressos com intervalo de confiança, ao nível de 95%, estão apresentados na Tabela 36 e 37.

Tabela 36 - Concentrações de cádmio determinadas em amostras de água de poço de Mallorca empregando MSFIA-CV AAS (n=3)

AMOSTRAS	Concentração de Cd (ng L⁻¹)
SANTA MARGALIDA	
AP 1	27,5 ± 8,3
AP 2	32,1 ± 5,2
AP 3	< 19,3 (LQ)
AP 4	30,3 ± 7,1
ARTA	
AP 5	30,2 ± 9,8
AP 6	53,5 ± 9,0
MANACOR	
AP 7	38,2 ± 8,6
AP 8	39,1 ± 6,5
AP 9	27,0 ± 6,7
BUNYOLA	
AP 10	< 19,3 (LQ)
AP 11	< 19,3 (LQ)
AP 12	26,7 ± 7,0

Tabela 37 - Concentrações de cádmio determinadas em amostras de água de mar de Palma de Mallorca empregando MSFIA-CV AAS (n=3)

AMOSTRAS	Concentração de Cd (ng L⁻¹)
AM 1	38,1 ± 6,5
AM 2	< 19,3 (LQ)
AM 3	25,5 ± 5,4
AM 4	27,1 ± 2,0
AM 5	29,1 ± 4,2

Todas as concentrações de cádmio encontradas, tanto nas águas do mar quanto nas águas de poços, atendem à diversas legislações, portanto, o cádmio não possui potencial tóxico nestas águas analisadas, sendo, então, as mesmas

adequadas para as suas finalidades, possivelmente sem apresentar risco a saúde humana, aos organismos vivos e aos ecossistemas.

3.5 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

O procedimento analítico automatizado desenvolvido e proposto mostrou-se adequado e eficiente para a determinação de cádmio em amostras aquosas naturais complexas, com excelente precisão e exatidão e limite de quantificação adequado para as baixas concentrações frequentemente encontradas nessas matrizes e comparáveis à métodos baseado em etapas de pré-concentração ou usando o ICP-MS como detector.

O acoplamento do sistema de injeção em fluxo com multiseringas ao CV AAS permitiu o menor consumo de amostras e reagentes e menor geração de resíduos quando comparados a sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA) e fluxo contínuo (CF). O sistema proposto MSFIA-CV AAS exigiu menor manipulação dos reagentes quando comparado às técnicas em bateladas e apresentou uma excelente robustez e alta repetibilidade.

As técnicas de otimização multivariada empregadas nesse trabalho se revelaram eficientes na investigação e otimização das variáveis que influenciam a geração de vapor frio e determinação de cádmio por MSFIA-CV AAS. Também evidenciaram que a reação de geração de vapor não é tão simples, uma vez que todos os fatores estudados, bem como suas interações, foram significativas, incluindo a de terceira ordem.

O trabalho desenvolvido durante a estância no laboratório do grupo de pesquisa em Química Analítica, Automatização e Meio Ambiente, no âmbito do projeto de doutorado sanduíche no exterior, contribuiu efetivamente no crescimento profissional e pessoal da doutoranda, agregando-lhe vastos conhecimentos na área de automatização e desenvolvimento de sistemas e estreitando ainda mais os laços de interação científica entre os pesquisadores da Universidade de las Islas Balears e a Universidade Federal da Bahia. Durante a missão de estudos, socialização de experiências foram realizadas em diversos campos da análise química, automatização, química verde, otimização multivariada, com estudantes e pesquisadores do grupo de pesquisa da instituição.

CAPÍTULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho ratificou que a geração de vapor químico a partir da reação com THB oferece vantagens irrefutáveis às análises espectrométricas atômicas. A separação do analito da matriz com sua posterior introdução no sistema de detecção sob a forma de vapor químico permitiu o desenvolvimento de métodos precisos, sensíveis, rápidos e seletivos. Em adição, foi capaz de conceber métodos com performances analíticas similares ou até melhores aos dos métodos baseados em GFAAS e ICP-MS, com uma vantagem adicional de serem de mais baixo custo, de fácil manipulação e robustos. A Tabela 38 evidencia descritivamente a informação/conclusão supracitada.

Tabela 38 - Análise comparativa entre métodos propostos para determinação de cobre e cádmio empregando diferentes técnicas de detecção

Analito	Técnica de detecção	LD	RSD (%)	Referência
Cu	CVG QTA AAS	0,30 $\mu\text{g L}^{-1}$	4,6 % (5 $\mu\text{g L}^{-1}$)	[a]
	GFAAS	0,98 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,3 % (20 $\mu\text{g L}^{-1}$)	[107]
	GFAAS	0,47 $\mu\text{g L}^{-1}$	4 - 8,5%	[108]
	ICP-MS	0,49 $\mu\text{g L}^{-1}$	5,2 % (5 $\mu\text{g L}^{-1}$)	[109]
	ICP-MS	0,030 $\mu\text{g L}^{-1 (*)}$	~ 5 % (0,24 $\mu\text{g L}^{-1}$)	[28]
Cd	CV AAS	5,8 ng L^{-1}	2,9% (0,25 $\mu\text{g L}^{-1}$)	[a]
	GFAAS	14 ng L^{-1}	1,07 - 2,33 % (20 - 880 ng L^{-1})	[110]
	GFAAS	80 ng L^{-1}	NI	[111]
	ICP-MS	30 ng L^{-1}	NI	[112]
	ICP-MS	4 $\text{ng L}^{-1 (*)}$	~ 5 % (0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$)	[28]

[a] Presente trabalho

(*) Aplicação de separação e pré-concentração em linha.

NI - Não Informado

Os métodos propostos tanto para cobre quanto para cádmio apresentaram excelente exatidão, limites de detecção e quantificação e inexistência de efeito de matriz, que evidenciaram uma satisfatória aplicação destes na determinação de Cu e Cd em amostras de material particulado atmosférico e águas naturais, respectivamente, empregando calibração externa com padrões aquosos. A possibilidade do uso de calibração externa na determinação de Cu e Cd nas amostras citadas, proporcionou uma maior simplicidade aos métodos estabelecidos, o que os tornam apropriados para análise de rotina.

O emprego da amostragem em suspensão e o uso de amostras *in natura* acidificadas, compreenderam procedimentos de preparo de amostras simples e eficazes que permitiram uma excelente frequência analítica para os métodos propostos e menor manipulação de reagentes concentrados e corrosivos.

Este trabalho mostrou ainda que o acoplamento da análise por injeção em fluxo com multiseringas (MSFIA) à CV AAS para a determinação de cádmio foi uma estratégia interessante de automatização, na qual a manipulação de reagentes é mínima, a frequência analítica é boa e a reprodutibilidade é destacada.

As ferramentas quimiométricas mostraram-se eficientes no desenvolvimento dos métodos, permitindo um estudo rápido e descritivo da influência dos fatores químicos e físicos e das interações nos sistemas de geração investigados. Além disso, geraram uma série de dados importantes que corroboraram e adicionaram informações à geração de vapor químico de metais de transição, empregando o THB.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] MATUSIEWICZ, H.; STURGEON, R. E. Review: Atomic spectrometric detection of hydride forming elements following in situ trapping within a graphite furnace. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 51, n. 4, p. 377 – 397, 1996.
- [2] D'ULIVO, A. Review: Chemical vapor generation by tetrahydroborate(III) and other borane complexes in aqueous media. A critical discussion of fundamental processes and mechanisms involved in reagent decomposition and hydride formation. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 59, n. 6, p. 793 – 825, 2004.
- [3] WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Copper: Environmental Health Criteria ; 200**, Genebra, 1998.
- [4] AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **Toxicological profile for copper**, Atlanta, setembro de 2004. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp132.pdf>>. Acesso em: 20 de Julho de 2014.
- [5] PEDROZO, M. F. M. e DE LIMA, I. V. **Ecotoxicologia do cobre e seus compostos**. Salvador: CRA - Centro de Recursos Ambientais, 2001. 128 p.
- [6] BARCELOS, T. D. J. **Cobre: Vital ou Prejudicial para a Saúde Humana?**. Dissertação de mestrado. Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2008.
- [7] WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Health aspects of air pollution with particulate matter, ozone and nitrogen dioxide**, Boon, 2003.
- [8] MUKHTAR, A. and LIMBECK, A. Recent developments in assessment of bio-accessible trace metal fractions in airborne particulate matter: A review. *Analytical Chimica Acta*, v. 774, p. 11-25, 2013.
- [9] OCCUPATIONAL SAFETY & HEALTH ADMINISTRATION (OSHA). **Limits for air contaminants**, Washington. Disponível em: <https://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_table=standards&p_id=9992>. Acesso em: 21 de Julho de 2014.
- [10] AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS (ACGIH). **2008 TLVs e BEIs - Limites de exposição ocupacional (TLVs) para substâncias químicas e agentes físicos & índices biológicos de exposição (BEIs)**. São Paulo: ABHO, 2008. Tradução de: Associação Brasileira de Higienistas Ocupacionais – ABHO.
- [11] NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (NIOSH). **Documentation for Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations (IDLHs): Chemical listing and documentation**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/niosh/idlh/intridl4.html>>. Acesso em 19 de Julho de 2014.
- [12] MENDONÇA, R. B. S. **Estudos de espécies metálicas associadas ao MP10 e MP2,5 oriundos de emissões veiculares**. Tese de doutorado. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

-
- [13] DE ALMEIDA, T. S.; SANT´ANA, M. O.; CRUZ, J. M.; TORMEM, L.; CURTIUS, A. J.; ALVES, J. P. H.; GARCIA, C. A. B.; SANTOS, P. A.; ARAUJO, R. G. O. Optimization method for sequential determination of Cu and Fe in airborne particulate matter collected on glass fiber filters by slurry sampling. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 700-706, 2013.
- [14] AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **Toxicological profile for cadmium**, Atlanta, setembro de 2012. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp5.pdf>>. Acesso em: 23 de Julho de 2014.
- [15] BAIRD, C.; CANN, M. **Environmental Chemistry**. 5ªed. New York: W. H. Freeman and Company. 851 p.
- [16] CARDOSO, L. M. N. e CHASIN, A. A. M. **Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos**. Salvador: CRA - Centro de Recursos Ambientais, 2001. 121 p.
- [17] TANG,W-W; ZENG, G-M; GONG, J-L; LIANG, J.; XU, P.; ZHANG, C.; HUANG, B-B. Impact of humic/fulvic acid on the removal of heavy metals from aqueous solutions using nanomaterials: A review. **Science of the Total Environment**, v. 468, p. 1014 - 1027, 2014.
- [18] CASTRO-GONZÁLES, M.I.; MÉNDEZ- ARMENTA, M. Heavy metal: Implications associated to fish consumption. **Environmental Toxicology and pharmacology**, v. 26, p. 263-271, 2008.
- [19] NASER, H. A. Assessment and management of heavy metal pollution in the marine environment of the Arabian Gulf: A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 72, p. 6 - 13, 2013.
- [20] CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). **Resolução Nº357 de 17 de março de 2005**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/>>. Acesso em: 10 de Maio de 2014.
- [21] BRASIL. **Portaria MS Nº 2.914, de 12 de novembro de 2011**. Diário oficial da união seção 1, Brasília,14 de dezembro, 2011.
- [22] WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Guidelines for drinking-water quality**, 4ª ed., Genebra, 2011.
- [23] AGENCY PROTECTION ENVIRONMENTAL (EPA). **National Recommended Water Quality Criteria: Aquatic Life Criteria Table**. Disponível em: <<http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/current/index.cfm#altable>>. Acesso em: 18 de Junho de 2014.
- [24] EUROPEAN COMMUNITIES . **Statutory instruments S.I. No. 9 of 2010**. Published in Iris Oifigiúil, january, 22nd, 2010.
- [25] UNIÃO EUROPÉIA. PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO. Diretiva 2013/39/UE, de 12 de agosto de 2013. Altera as diretivas 2000/60/CE e 2008/105/CE no que respeita às substâncias prioritárias no domínio da política da água. **Jornal Oficial da União Européia**, 24 de agosto de 2013. Disponível em: < <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2013:226:FULL&from=ES> >. Acesso em: 18 de Junho de 2014.

[26] QUEBEC. **Soil Protection and Contaminated Sites Rehabilitation Policy: Generic criteria for soils and groundwater**. Disponível em: <<http://www.mddep.gouv.qc.ca/sol/terrains/politique-en/appendix2-criteria.htm>>. Acesso em: 18 de Junho de 2014.

[27] CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (CCME). **Canadian Environmental Quality Guidelines: Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life**. Disponível em: <<http://ceqg-rcqe.ccme.ca/>>. Acesso em: 21 de Junho de 2014.

[28] TRUJILLO, I. S.; ALONSO, E. V.; DE TORRES, A. G.; PAVÓN, J. M. C. Development of a solid phase extraction method for the multielement determination of trace metals in natural waters including sea-water by FI-ICP-MS. **Microchemical Journal**, v.101, p.87-94, 2012.

[29] XU, Z.-R.; PAN, H.-Y.; XU, S.-K.; FANG, Z.-L. A sequential injection on-line column preconcentration system for determination of cadmium by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 55, p.213-219, 2000.

[30] RIONDATO, J.; VANHAECKE, F.; MOENS, L.; DAMS, R. Fast and reliable determination of (ultra-)trace and/or spectrally interfered elements in water by sector field ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, p. 341-345, 2000.

[31] LONG, Z.; LUO, Y.; ZHENG, C.; DENG, P.; HOU, X. Recent advance of hydride generation – analytical atomic spectrometry: Part I – technique development. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 47, n. 5, p. 382-413, 2012.

[32] POHL, P. Recent advances in chemical vapour generation via reaction with sodium tetrahydroborate. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 21-27, 2004.

[33] D'ULIVO, A.; DEDINA, J.; MESTER, Z.; STURGEON, R. E.; WANG, Q.; WELZ, B. Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 83, n. 6, p. 1283 – 1340, 2011.

[34] LUNA, A. S.; STURGEON, R. E.; DE CAMPOS, R. C. Chemical vapor generation: atomic absorption by Ag, Au, Cu, and Zn following reduction of aquo ions with sodium tetrahydroborate(III). **Analytical Chemistry**, v. 72, n.15, p. 3523 – 3531, 2000.

[35] VILLANUEVA-ALONSO, J.; PEÑA-VÁZQUEZ, E.; BERMEJO-BARRERA, P. Use of high resolution continuum source atomic absorption spectrometry as a detector for chemically generated noble and transition metal vapors. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 69, n. 7, p. 659 -665, 2009.

[36] DUAN, X.; MCLAUGHLIN, R. L.; BRINDLE, I. D.; CONN, A. Investigations into the generation of Ag, Au, Cd, Co, Cu, Ni, Sn and Zn by vapour generation and their determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, together with a mass spectrometric study of volatile species. Determination of Ag, Au, Co, Cu, Ni and Zn in iron. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, n. 3, p. 227 - 231, 2002.

[37] XU, S.; STURGEON, R. E.; GUO, Y.; ZHANG, W.; ZHAO, H. Chemical vapor generation of Cu: optimization of generation media. **Annali di chimica**, v. 95, p. 491 – 499, 2005.

[38] WELNA, M.; LASOWSKA, J.; ZYRNICKI, W. Determination of Some Inorganic Species of Fe, Mn and Cr by Chemical Vapor Generation Hyphenated with Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 6, p. 1164 – 1169, 2011.

[39] WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 1999.

[40] HOLAK, W. Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry. **Analytical Chemistry**, v. 41, n. 12, p. 1712 – 1713, 1969.

[41] TAKASE, I.; PEREIRA, H. B.; LUNA, A. S.; GRINBERG, P.; DE CAMPOS, R. C. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1132 – 1144, 2002.

[42] BRAMAN, R. S.; JUSTEN, L. L.; FOREBACK, C. C. Direct volatilization-spectral emission type detection system for nanogram amounts of arsenic and antimony. **Analytical Chemistry**, v. 44, n. 13, p. 2195 – 2199, 1972.

[43] DEDINA, J.; TSALEV, D. M. **Hydride generation**: Atomic Absorption Spectrometry. Inglaterra: John Wiley e Sons. Inglaterra, 1995.

[44] ROBBINS, W. B. AND CARUSO, A. J. Development of Hydride Generation Methods for Atomic Spectroscopic Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 889A, 1979.

[45] D'ULIVO, A. **Mechanism of generation of volatile species by aqueous boranes**: Towards the clarification of most controversial aspects. **Spectrochimica Acta Part B**, v.65, n. 5, p. 360 – 375, 2010.

[46] D'ULIVO, A.; MESTER, Z.; MEIJA, J.; STURGEON, R. E. Mechanism of Generation of Volatile Hydrides of Trace Elements by Aqueous tetrahydroborate(III). Mass Spectrometric Studies on Reaction Products and Intermediates. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 7, p. 3008 - 3015, 2007.

[47] D'ULIVO, A.; MESTER, Z.; STURGEON, R. E. The mechanism of formation of volatile hydrides by tetrahydroborate(III) derivatization: A mass spectrometric study performed with deuterium labeled reagents. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 60, n. 4, p. 423 – 438, 2005.

[48] JOLLY, W. L. AND MESMER, R. E. Exchange of hydrogen between water and the hydroborate ion. **Journal of the American Chemical Society**, v. 83, n. 21, p. 4470 – 4471, 1961.

[49] MESMER, R. E. AND JOLLY, W. L. The Exchange of Deuterium with Solid Potassium Hydroborate. **Journal of the American Chemical Society**, v. 84, n. 11, p. 2039 – 2042, 1962

-
- [50] DEDINA, J. AND MATOUSEK, T. Multiple microflame - a new approach to hydride atomization for atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, n. 3, p. 301 – 304, 2000.
- [51] VIEIRA, M. A.; SAINT-PIERRE, T. D.; WELZ, B.; CURTIUS, A. J. Determination of As, Hg, Se and Sn in sediment slurries by CVG-ETV-ICP-MS with trapping in an Ir treated graphite tube and calibration against aqueous Standards. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 19, n. 2, p. 297 – 300, 2004.
- [52] VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; CURTIUS, A. J. Determination of As, Ge, Hg, Pb, Sb, Se and Sn in coal slurries by CVG-ETV-ICP-MS using external or isotopic dilution calibration. **Microchemical Journal**, v. 82, n. 2, p. 127 – 136, 2006.
- [53] STURGEON, R. E.; LIU, J.; BOYKO, V. J.; LUONG, V. T. Determination of copper in environmental matrices following vapor generation. **Analytical Chemistry**, v.68, p. 1883-1887, 1996.
- [54] ZHENG, C.; STURGEON, R. E.; HOU, X. Thin film hydride generation: determination of ultra-trace copper by flow injection in situ hydride trapping graphite furnace AAS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.25, p.1159-1165, 2010.
- [55] ZHANG, C.; LI, Y.; CUI, X.-Y.; JIANG, Y.; YAN, X.-Y. Room temperature ionic liquids enhanced chemical vapor generation of copper, silver and gold following reduction in acidified aqueous solution with KBH_4 for atomic fluorescence spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.23, p.1372-1377, 2008.
- [56] ZHOU, H. Y.; XU, S. K.; FANG, Z. L. Determination of trace amounts of copper by flow injection vapor generation AAS. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, v. 20, p. 525-528, 2000.
- [57] LUNA, A. S.; PEREIRA, H. B.; TAKASE, I.; GONÇALVES, R. A.; STURGEON, R. E.; DE CAMPOS, R. C. Chemical vapor generation—electrothermal atomic absorption spectrometry: new perspectives **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57, p. 2047-2056, 2002.
- [58] ASFAW, A. and WIBETOE, G. Dual mode sample introduction for multi-element determination by ICP-MS: the optimization and use of a method based on simultaneous introduction of vapor formed by NaBH_4 reaction and aerosol from the nebulizer. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.21, p.1027-1035, 2006.
- [59] PEÑA-VÁZQUEZ, E.; VILLANUEVA-ALONSO, J.; BERMEJO-BARRERA, P. Optimization of a vapour generation method for metal determination using ICP-OES. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.22, p.642-649, 2007.
- [60] HE, L.; ZHU, X.; WU, L.; HOU, X. Determination of trace copper in biological samples by on-line chemical vapor generation-atomic fluorescence spectrometry. **Atomic Spectroscopy**, v.29, p. 93-98, 2008.
- [61] SILVA, L. O. B.; LEO, D. J.; DOS SANTOS, D. C.; MATOS, G. D.; DE ANDRADE, J. B.; FERREIRA, S. L. C. Determination of copper in airborne particulate matter using slurry sampling and chemical vapor generation atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 127, p. 140-145, 2014.

-
- [62] POLUEKTOV, N. S.; VITKUN, R. A. **Zh. Anal. Khim.**, v. 18, p.33, 1963.
- [63] POLUEKTOV, N. S.; VITKUN, R. A.; ZELYUKOVA, Y. A. **Zh. Anal. Khim.**, v. 19, p.937, 1964.
- [64] HATCH, W. R. AND OTTO, W. L., Determination of submicrogram quantities of mercury by atomic absorption spectrophotometry. **Analytical Chemistry**, v. 40, p. 2085-2087, 1968.
- [65] SANZ-MEDEL, A.; VALDÉS-HEVIA Y TEMPRANO, M. C.; BORDEL GARCÍA, N.; FERNÁNDEZ DE LA CAMPA, M. R., Generation of cadmium atoms at room temperature using vesicles and its application cadmium determination by cold vapor atomic spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 67, p.2216-2223, 1995.
- [66] SANZ-MEDEL, A.; VALDES-HEVIA Y TEMPRANO, M.C; BORDEL GARCIA, N.; FERNANDEZ DE LA CAMPA, M.R., The use of surfactants to obtain cadmium atoms at room temperature and its application for the cold vapor AAS determination of the metal. **Analytical Proceedings**, v. 32, p.49– 52, 1995.
- [67] YAN, X.-P. and NI, Z.-M. Review: Vapour generation atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v.291, p.89-105, 1994.
- [68] FENG, Y.-L.; STURGEON, R.E.; JOSEPH, W.L. Generation of Atomic and Molecular Cadmium Species from Aqueous Media. **Analytical Chemistry**, v. 75, p. 635-640, 2003.
- [69] GARRIDO, M. L.; MUÑOZ-OLIVAS, R.; CÁMARA, C. Interference removal for cadmium determination in waste water and sewage sludge by flow injection cold vapour generation atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.13, p.1145-1149, 1998.
- [70] VARGAS-RAZO, C. AND TYSON, J. F. Determination of cadmium by flow injection-chemical vapor generation-atomic absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v.366, p. 182-190, 2000.
- [71] MANZOORI, J. L.; ABDOLMOHAMMAD-ZADEH, H.; AMJADI, M. Ultratrace determination of cadmium by cold vapor atomic absorption spectrometry after preconcentration with a simplified methodology. **Talanta**, v. 71, p.582-587, 2007.
- [72] SAHAN, S. AND SAHIN, U. An automated on-line minicolumn preconcentration cold vapor atomic absorption aspectrometer: Application to determination of cadmium in water samples. **Talanta**, v. 88, p.701-706, 2012.
- [73] GUO, X. W. AND GUO, X. M. Determination of cadmium at ultratrace levels by cold vapor atomic-absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 10, p.987-991, 1995.
- [74] BERMEJO-BARRERA, P.; MOREDA-PINEIRO, J.; MOREDA-PINEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, A. Use of flow injection cold vapour generation and preconcentration on coated graphite tubes for the determination of cadmium in sea-water by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.11, p.1081-1086, 1996.

-
- [75] LIU, M.Y.; XU, S.K. The determination of trace cadmium by flow injection cold vapor generation AAS. **Atomic Spectroscopy**, v.18, p.195-201, 1997.
- [76] GARRIDO, M. L. ; MUNOZ-OLIVAS, R.; CAMARA, C. Determination of cadmium in aqueous media by flow injection cold vapour atomic absorption spectrometry. Application to natural water samples. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.13, p.295-300, 1998.
- [77] LIVA, M.; MUÑOZ-OLIVAS, R.; CÁMARA, C. Determination of Cd in sonicate slurries and leachates of biological and environmental materials by FI-CV-AAS. **Talanta**, v. 51, p. 381-387, 2000.
- [78] GAN, W. E.; SHI, W. W.; SU, Q. D. Simultaneous determination of trace mercury and cadmium in tobacco samples by cold vapor generation-atomic fluorescence spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 19, p.911-916, 2004.
- [79] GAN, W. E.; SHI, W. W.; SU, Q. C. Determination of cadmium by CVAAS using nebulous phase reaction vapor generation system. **Atomic Spectroscopy**, v. 25, p.245-250, 2004.
- [80] CHUACHUAD, W. AND TYSON, J.F. Determination of cadmium by flow injection atomic absorption spectrometry with cold vapor generation by a tetrahydroborate-form anion-exchanger. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.20, p.273-281, 2005.
- [81] HA, J.; SUN, H-W.; KANG, W-J.; LIANG, S-X. Continuous Flow Chemical vapor generation for the determination of cadmium in foodstuffs by atomic absorption spectrometry using derivative signal processing. **Microchimica Acta**, v.150, p.277-282, 2005.
- [82] RITSCHDORFF, E. T.; FITZGERALD, N.; MCLAUGHLIN, R. L. J.; BRINDLE, I. D. The use of a modified Multimode Sample introduction system for the simple and rapid determination of cadmium by chemical vapour generation atomic absorption spectrometry . **Spectrochimica Acta Part B**, v.60, p.139 – 143, 2005.
- [83] KORKMAZ, D.; DEMIR, C.; AYDIN, F.; ATAMAN, O.Y. Cold vapour generation and on-line trapping of cadmium species on quartz surface prior to detection by atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.20, p.46-52, 2005.
- [84] CANKUR, O. AND ATAMAN, O.Y. Chemical vapor generation of Cd and on-line preconcentration on a resistively heated W-coil prior to determination by atomic absorption spectrometry using an unheated quartz absorption cell. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.22, p.791-799, 2007.
- [85] POURREZA, N. AND GHANEMI, K. Solid phase extraction of cadmium on 2-mercaptobenzothiazole loaded on sulfur powder in the medium of ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate and cold vapor generation–atomic absorption spectrometric determination. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, p.566-571, 2010.
- [86] NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 4ª Ed. Porto Alegre: Bookman, 2010.

-
- [87] FERREIRA, S. L. C.; KORN, M. G. A.; FERREIRA, H. S.; DA SILVA, E. G. P.; ARAÚJO, R. G. O.; AMORIM, F. A. C.; SOUZA, A. S.; MACEDO, S. M.; LIMA, D. C.; DE JESUS, R. M.; BOSQUE-SENDRA, J. M. Application of multivariate techniques in optimization of spectroanalytical methods. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 42, n. 5, p. 475-491, 2007.
- [88] FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; DA SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. A.; DOS REIS, P. S.; SOUZA, A. S.; DOS SANTOS, W. N. L. Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods - A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 597, n. 2, p. 179-186, 2007.
- [89] LUNDSTEDT, T.; SEIFERT, E.; ABRAMO, L.; THELIN, B.; NYSTROM, A.; PETTERSEN, J.; BERGMAN, R. Experimental design and optimization. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 42, n. 1-2, p. 3-40, 1998.
- [90] TEÓFILO, R. F. AND FERREIRA, M. M.C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338 – 350, 2006.
- [91] ARAUJO, P. W. AND BRERETON, R. G. **Experimental design**: I. Screening. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 26 – 31, 1996
- [92] TARLEY, C. R. T.; SILVEIRA, G.; DOS SANTO, W. N. L.; MATOS, G. D.; DA SILVA, E. G. P.; BEZERRA, M. A.; MIRÓ, M.; FERREIRA, S. L. C. Review article - Chemometric tools in electroanalytical chemistry: Methods for optimization based on factorial design and response surface methodology. **Microchemical Journal**, v. 92, p. 58–67, 2009.
- [93] BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Review - Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965 – 977, 2008.
- [94] TARLEY, C. R. T.; SILVEIRA, G.; DOS SANTO, W. N. L.; MATOS, G. D.; DA SILVA, E. G. P.; BEZERRA, M. A.; MIRÓ, M.; FERREIRA, S. L. C. Review article - Chemometric tools in electroanalytical chemistry: Methods for optimization based on factorial design and response surface methodology. **Microchemical Journal**, v. 92, p. 58–67, 2009.
- [95] SUN, W-H. AND SUO, R. Enhancement reagents for simultaneous vapor generation of zinc and cadmium with intermittent flow system coupled to atomic fluorescence spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 509, p. 71-76, 2004.
- [96] MATUSIEWICZ, H. Chemical vapor generation with slurry sampling: A review of atomic absorption applications. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 38, n. 3, p. 263-294, 2003.
- [97] LAI, D.M.; DENG, T.L. Determination of cadmium in soil samples with ascorbic acid and sulfanilamide as enhanced reagent using hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, v. 38, p. 542–546, 2010.

[98] MILLER, J. C. AND MILLER, J. N. **Estadística para química analítica**. 2ª edição. Delaware, E.U.A., Addison-Wesley Iberoamericana, S.A., 1993.

[99] PEREIRA, P. A. D. P.; LOPES, W. A.; CARVALHO, L. S.; DA ROCHA, G. O.; BAHIA, N. D. C.; LOYOLA, J.; QUITERIO, S. L.; ESCALEIRA, V.; ARBILLA, G.; DE ANDRADE, J. B. Atmospheric concentrations and dry deposition fluxes of particulate trace metals in Salvador, Bahia, Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 41, p.7837-7850, 2007.

[100] CERDÀ, V.; FERRER, L.; AVIVAR, J.; CERDÀ, A.. **Flow Analysis: a practical guide**. Elsevier, Amsterdam, 2014.

[101] MELCHERT, W. R.; REIS, B. F.; ROCHA, F. R. P. Green chemistry and the evolution of flow analysis. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 714, p. 8 -19, 2012.

[102] CERDÀ, V.; ESTELA, J. M.; FORTEZA, R.; CLADERA, A.; BECERRA, E.; ALTIMIRA, P.; SITJAR, P. Flow techniques in water analysis. **Talanta**, v. 50, p. 695-705, 1999.

[103] MIRO, M.; CERDÀ, V.; ESTELA, J. M. Multisyringe flow injection analysis: characterization and applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**. v. 21, p. 199 - 210, 2002.

[104] CERDÀ, V. **Introducción a los métodos de análisis en flujo**. Sciware, S. L. Palma de Mallorca, 2006. 243 p.

[105] INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E INDUSTRIAL (INMETRO). **Orientações sobre validação de métodos e ensaios químicos - DOQ-CGCRE-008**, Março 2003.

[106] THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis - (IUPAC technical report). **Pure Appl. Chem**, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.

[107] ALMEIDA, A. A. AND LIMA, J. L. F. C. Optimized conditions and analytical performance for the determination of Cu in serum and urine samples using a single GFAAS procedure. **Atomic Spectroscopy**, v.22, p.324-330, 2001.

[108] DELAFUENTE, M. A.; GUERRERO, G.; JUAREZ, M. Determination of copper in skim milk by GFAAS using palladium-magnesium modifier and Ilov platform. **Atomic Spectroscopy**, v.16, p. 219-223, 1995.

[109] MARTÍN-CAMEÁN, A.; JOS, A.; CALLEJA, A.; GIL, F.; IGLESIAS-LINARES, A.; SOLANO, E.; CAMEÁN, A. M. Development and validation of an inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) method for the determination of cobalt, chromium, copper and nickel in oral mucosa cells. **Microchemical Journal**, v. 114, p.73-79, 2014.

[110] JUNIOR, M. M. S.; SILVA, L. O. B.; LEÃO, D. J.; FERREIRA, S. L. C. Analytical strategies for determination of cadmium in Brazilian vinegar samples using ET AAS. **Food Chemistry**, v. 160, p.209-213, 2014.

[111] ACAR, O. Determination of cadmium, copper and lead in soils, sediments and sea water samples by ETAAS using a Sc + Pd + NH₄NO₃ chemical modifier. **Talanta**, v.65, p. 672-677, 2005.

[112] LIMA, D. C. L. **Estudo crítico empregando otimização multivariada na determinação de cádmio e chumbo empregando espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos - avaliação do estuário do rio São paulo, Bahia.** Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.