



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

LUANA OLIVEIRA RAMOS MACHADO

**ESTUDO CRÍTICO DA GERAÇÃO DE VAPOR DE ESPÉCIES
DE CROMO EMPREGANDO BORO-HIDRETO COMO
AGENTE REDUTOR**

Salvador

2016

LUANA OLIVEIRA RAMOS MACHADO

**ESTUDO CRÍTICO DA GERAÇÃO DE VAPOR DE ESPÉCIES
DE CROMO EMPREGANDO BORO-HIDRETO COMO
AGENTE REDUTOR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia para obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira

Salvador


2016


TERMO DE APROVAÇÃO

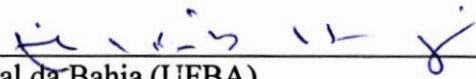
LUANA OLIVEIRA RAMOS MACHADO

“ESTUDO CRÍTICO DA GERAÇÃO DE VAPOR DE ESPÉCIES DE CROMO EMPREGANDO BOROHIDRETO COMO AGENTE REDUTOR”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre 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-Rio)
Universidade Federal da Bahia

Prof.^a Dr.^a Luciana Almeida da Silva 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Anibal de Freitas Santos Junior 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade do Estado da Bahia

Salvador, 19 de dezembro de 2016.

Aos meus pais Luciano e Vanderlina.

Às minhas irmãs Mariana e Louise.

A Leonard.

AGRADECIMENTOS

A Deus, à força maior que nutre o meu dia a dia e o de todos que me rodeiam e que me permitiu viver novamente para seguir com projetos, sonhos e luta, na busca por dias felizes, boas recordações e desafios constantes.

Ao professor Sérgio Luís Costa Ferreira pelas oportunidades, acolhimento, confiança, atenção e orientação, assim como pelo prazer de observar a construção constante de um professor.

Aos meus pais pelo apoio incondicional, conversas, carinho, incentivos e porto seguro.

Às minhas irmãs por todos os momentos vividos que me ensinaram a dividir, pensar no outro e a vencer a cada dia.

A Leonard pelos ouvidos atentos mesmo a quilômetros de distância, pelo amor, carinho e alegrias em meio a momentos de (re)descobertas.

À Laiana Bastos pelos incentivos, profundas conversas, risadas, aprendizados, lições sábias, calma, sinceridade e zelo pela amizade. Obrigada pelo apoio incondicional, pelos dias de conversa e pela companhia e ajuda no laboratório. Sem palavras.

Aos meus amigos Danilo Leão e Mário Marques pelas alegrias de compartilhar ideias, piadas, ensinamentos e almoços. A Arlene Santos, também companheira destes momentos únicos.

À Larissa por toda a atenção, conversas e consideração.

A Geovani Cardoso (Jow) pela assistência, amizade, leveza, troca de conhecimentos e extrema bondade e vontade de ajudar a mim e a todos ao seu redor.

Aos amigos de longa data Luciane, Daniel e Thais pela amizade duradoura e palavras certeiras nas horas de alegria e de aperto.

Aos colegas do “laboratório da frente” que também vivenciam o Instituto de Química e nos trazem leveza e cooperação aos nossos trabalhos.

Aos colegas do Grupo de Pesquisa em Química e Quimiometria. Um ambiente de trabalho agradável, com pessoas que nos querem bem, é o que nos ajuda a vencer.

Aos meus avós, primos e familiares pelas alegrias de poder compartilhar as experiências que vivi até agora e de poder contar com o carinho e orações de todos vocês.

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

Ao Instituto de Química e Universidade Federal da Bahia por ter tido a chance de conhecer o mundo acadêmico abrindo suas portas desde a graduação.

Aos funcionários do IQ e da Secretaria de Pós-graduação, Michel, Luciana e Cris pela atenção e disponibilidade sempre que necessitei.

“O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano.”

Isaac Newton

RESUMO

O presente trabalho traz informações acerca da geração química de vapor de espécies inorgânicas de cromo, trivalente e hexavalente, empregando tetrahidrobórato de sódio como agente redutor em meio ácido. Foram estudados aspectos químicos e físicos que, de acordo com a literatura científica, podem influenciar no desempenho da reação em questão. O sistema proposto consta de um acoplamento entre módulo de geração de hidretos em batelada com a técnica de espectrometria de absorção atômica com fonte contínua de alta resolução, utilizando célula de quartzo com aquecimento externo. O desenvolvimento deste trabalho foi realizado através de ferramentas quimiométricas (planejamentos fatoriais completos e metodologia de resposta de planejamento Box-Behnken) e experimentos univariados. Planejamentos fatoriais completos de dois níveis (2^3) foram aplicados na triagem de três variáveis químicas: concentração de HCl, concentração de NaBH_4 e vazão de NaBH_4 . Considerando a espécie Cr(III), a concentração de HCl teve maior efeito sobre a geração química de vapor (CVG) com valor negativo; para a espécie Cr(VI), a interação entre as três variáveis exerceu maior influência, com valor negativo. Seguidamente, um planejamento Box-Behnken foi aplicado para os três fatores para cada espécie separadamente. Os modelos matemáticos resultantes para ambas não apresentaram falta de ajuste ($p\text{-valor} > 0,05$) e as superfícies de resposta tridimensionais apresentaram região de máximo de resposta analítica (absorvância). Condições experimentais otimizadas foram estabelecidas: concentração de ácido clorídrico 0,076 e 0,070 mol L⁻¹; concentração de NaBH_4 0,79% e 0,85% (m/v); e vazão de NaBH_4 15,4 e 15,2 mL min⁻¹ para Cr(III) e Cr(VI) respectivamente. Parâmetros físicos foram avaliados de modo univariado: o comprimento do tubo condutor do vapor químico até a célula de quartzo não foi significativo na CVG de cromo, mas foi mantido o maior comprimento devido à maior absorvância do analito; e o volume introduzido de NaBH_4 na solução foi investigado para Cr(VI) e o volume de 2 mL do reagente proporcionou maior absorvância. O estudo da influência dos reagentes auxiliares no sinal analítico de ambas espécies de cromo mostrou que houve supressão da absorvância na presença de todos (tiourea, sulfanilamida, 8-hidroxiquinolina, ácido tartárico, ácido oxálico e cobalto), não sendo adicionado nenhum outro reagente às soluções. A investigação de possíveis interferentes (Ni, Fe, Al, Cu, V, S e Mn) foi realizada com a espécie hexavalente devido à utilização comum de agentes oxidantes no processo de tratamento de amostras; incremento ou supressão de absorvância maiores que 5% foram observadas para os elementos, exceto para Al a 100 mg L⁻¹. Nas condições otimizadas para Cr(III) e Cr(VI), as curvas de calibração externa adequaram-se ao modelo linear e apresentaram coeficientes de correlação $r > 0,99$. Os limites de detecção e quantificação obtidos foram 1,7 e 5,8 mg L⁻¹ para Cr(III) e 5,8 e 19,5 mg L⁻¹ para Cr(VI), respectivamente. A precisão foi menor que 10% para ambas as espécies. O sistema proposto em batelada para CVG de espécies inorgânicas de cromo proporcionou maiores limites de detecção e quantificação que os registrados na literatura utilizando sistema de fluxo contínuo.

Palavras-chave: geração química de vapor; cromo trivalente; cromo hexavalente.

ABSTRACT

The present work aims to give informations about the chemical vapor generation of inorganic species of chromium, trivalent and hexavalent, applying sodium tetrahydroborate as reductant agent in acid media. Chemical and physical aspects are studied wich, according to cientific publications, can affect the performance of the mentioned reaction. The proposed system consists of a coupling between a batch module of vapor generation with high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry, using an externally heated quartz cell. The development of this word was made through quimiometric tools (full factorial designs and surface response methodology of Box-Behnken design) and univariate experiments. Two-level full factorial designs (2^3) were applied to three variables screening: HCl concentration, NaBH₄ concentration and NaBH₄ flow rate. Considering the Cr(III) specie, HCl concentration had the greatest effect in CVG with negative value; for Cr(VI) specie, the interaction between the three variables had the greatest influence, with negative value. Subsequently, a Box-Behnken design was applied for the three factor to each specie separately. Resulting mathematic models for both species did not presented lack of fit (p -value>0,05) and the response surfaces showed maximum of analytical response (absorption). Optimized experimental conditions were established: hydrochloridric acid concentration 0,076 and 0,070 mol L⁻¹; NaBH₄ concentration 0,79% and 0,85% (m/v); and NaBH₄ flow rate 15,4 and 15,2 mL min⁻¹ for Cr(III) and Cr(VI), respectively. Physical parameters were evaluated in one-at-a-time mode: the length of chemical vapor transferring tube to the quartz cell was not significative in chromium CVG, but the longer length was choosen due to higher absorption values of the analyte; and NaBH₄ volume introduced in the solution was investigated for Cr(VI) and 2 mL of the reagent provided higher absorption signals. The study of the influence of auxiliary reagents for analytical signals of both species showed suppression of absorption in the presence of all considered reagents (thiourea, sulfanilamide, 8-hydroxyquinoline, tartaric acid, oxalic acid and cobalt), and no other reagent was added to the solutions. The investigation of possible interferents (Ni, Fe, Al, Cu, V, S and Mn) was performed with the hexavalent specie due to common use of oxidizing agents in sample treatment process; increments or suppression of absorptions higher than 5% were observed in the preence of all elements, except for Al when concentration was 100 mg L⁻¹. Under optimized conditions for Cr(III) and Cr(VI), linear models adecuated the external calibration curves data and showed correlation coefficients $r > 0,99$. The detection and quantification limits obtained were 1,7 and 5,8 mg L⁻¹ for Cr(III) and 5,8 and 19,5 mg L⁻¹ for Cr(VI), respectively. The precision was less then 10% for both species. The proposed batch system for CVG of inorganic chromium species provided higher detection and quantification limits compared with registred ones in literature using continous flow.

Key words: chemical vapor generation; trivalent chromium; hexavalent chromium.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Proposta de mecanismo de CVG em meio aquoso com THB, na ausência de interferentes (ABC: intermediário complexo analito-borano; E: átomo do analito; L: ligante; B–H: boranos)24
- Figura 2.** Modelo de reação sob condições não-analíticas de CVG de metais e semi-metais em meio aquoso com THB (ABC: intermediário complexo analito-borano; E: átomo do analito; L: ligante).....25
- Figura 3.** Sistemas de introdução de reagentes e amostras via (a) batelada, (b) fluxo contínuo e (c) injeção em fluxo26
- Figura 4.** Matriz de planejamento fatorial completo de dois níveis para três variáveis41
- Figura 5.** Tipos de design simétricos de metodologias de superfície de resposta: (a) planejamento fatorial completo de três níveis; (b) design composto central (CCD); (c) matriz Doehlert para 3 fatores; e (d) planejamento Box-Behnken.....44
- Figura 6.** Equipamento de HR-CS AAS (Contraa 700, Analytik Jena) e desenho esquemático do módulo HS 50 com célula de quartzo T48
- Figura 7.** Gráficos das médias marginais para estudo dos efeitos de interação (a) [HCl] x [NaBH₄], (b) Vazão x [NaBH₄] e (c) [HCl] x [NaBH₄] x Vazão, referentes a CVG Cr(III).....57
- Figura 8.** Gráfico de Pareto em função dos valores da estatística de teste t referente planejamento fatorial completo de CVG de Cr(III) com NaBH₄58
- Figura 9.** Gráficos das médias marginais para estudo dos efeitos de interação (a) [HCl] x [NaBH₄], (b) [HCl] x Vazão e (c) [HCl] x [NaBH₄] x Vazão, referentes a CVG Cr(VI)59
- Figura 10.** Gráfico de Pareto em função dos valores da estatística de teste t referente planejamento fatorial completo de CVG de Cr(VI) com NaBH₄.....60
- Figura 11.** Superfícies de resposta – Cr(III): (a) = (ABS x [HCl] x [NaBH₄]), (b) = (ABS x Vazão x [NaBH₄]), (c) = (ABS x [HCl] x Vazão).....64
- Figura 12.** Superfícies de resposta – Cr(VI): (a) = (ABS x [HCl] x [NaBH₄]), (b) = (ABS x Vazão x [NaBH₄]), (c) = (ABS x [HCl] x Vazão).....65
- Figura 13.** Estrutura química dos reagentes auxiliares estudados67
- Figura 14.** Redução relativa da resposta analítica (absorvância) de (a) cromo(III) e (b) cromo(VI) na presença de reagentes auxiliares68
- Figura 15.** Gráfico de volume de NaBH₄ introduzido no sistema reacional x absorvância de Cr(VI)70
- Figura 16.** Estudo dos interferentes Ni, Fe, Al, Cu, V, S e Mn na CVG de Cr(VI)72
- Figura 17.** Gráficos dos resíduos do sinal analítico (absorvância) nas determinações de (a) Cr(III) e (b) Cr(VI)74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Publicações com foco em estudos de mecanismos de reação.....	22
Tabela 2. Publicações sobre CVG de metais de transição e condições de reação, sistema de operação, tipo de técnica de detecção e de otimização da resposta analítica	33
Tabela 3. Comparação da eficiência entre planejamentos composto central (CCD), Box-Behnken (BBD) e Doehlert (DM)	44
Tabela 4. Parâmetros instrumentais de trabalho do sistema CVG-HR-CS AAS	49
Tabela 5. Dados experimentais dos planejamentos fatoriais completos 2^3 referentes à CVG de Cr(III) e Cr(VI).....	55
Tabela 6. Efeitos e interações significativos	55
Tabela 7. Planejamento Box-Behnken para fatores significativos na CVG de Cr(III)	61
Tabela 8. Planejamento Box-Behnken para fatores significativos na CVG de Cr(VI)	62
Tabela 9. Análise de variância dos dados do planejamento Box-Behnken da espécie Cr(III).63	
Tabela 10. Análise de variância dos dados do planejamento Box-Behnken da espécie Cr(VI)	63
Tabela 11. Condições ótimas para os fatores investigados na CVG de espécies inorgânicas de cromo determinadas pelo planejamento Box-Behnken (valor codificado entre parêntesis)	66
Tabela 12. Absorvância das espécies de cromo com diferentes comprimentos de tubo condutor.....	69
Tabela 13. Dados des curvas analíticas	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MIP-OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Microondas, do inglês <i>Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
AAS	Espectrometria de absorção atômica, do inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
ABC	Complexo analito-borano, do inglês <i>analyte-borane complex</i>
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA	Análise de Variância
CP	Pixel central, do inglês <i>central pixel</i>
CRM	Material de referência certificado, do inglês <i>certified reference material</i>
CV	Coefficiente de Variação
CV AAS	Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio, do inglês <i>cold vapor atomic absorption spectrometry</i>
CVG	Geração química de vapor, do inglês <i>chemical vapor generation</i>
EHQTA	Atomizador de tubo de quartzo aquecido externamente, do inglês <i>electric heated quartz tube atomizer</i>
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama, do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
GF AAS	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>
HQT-AAS	Espectrometria De Absorção Atômica Com Tubo De Quartzo Aquecido, do inglês <i>Heated Quartz Tube Atomic Absorption Spectrometry</i>
HR-CS AAS	Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, do inglês <i>High-resolution continuum source of atomic absorption spectrometry</i>
IAT	<i>In-situ atom trapping</i>
IBC	<i>Iterative background correction</i>

ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LOD	Limite de Detecção
LOQ	Limite de Quantificação
LS AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Fonte de Linha, do inglês <i>Line Source Atomic Absorption Spectrometry</i>
QTA	Atomizador de tubo de quartzo, do inglês <i>quartz tube atomizer</i>
RSM	Metodologia de superfície de resposta, do inglês <i>response surface methodology</i>
THB	Tetrahidroborato
US EPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês <i>United States Environmental Protection Agency</i>
UV Vis	Espectrofotometria na região do ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1. OBJETIVO GERAL.....	17
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1. GERAÇÃO QUÍMICA DE VAPOR	18
3.1.1. Mecanismo geral.....	20
3.1.2. Instrumentação	26
3.1.3. Interferências	28
3.1.4. Reagentes auxiliares	30
3.2. GERAÇÃO QUÍMICA DE VAPOR DE METAIS DE TRANSIÇÃO USANDO SAIS DE TETRAHIDROBORATO.....	32
3.2.1. HR-CS AAS e CVG de metais de transição	35
4. CROMO	37
4.1. ASPECTOS GERAIS.....	37
4.2. CVG E CROMO.....	38
5. QUIMIOMETRIA E OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS.....	40
5.1. PLANEJAMENTO FATORIAL E METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA	40
5.2. QUIMIOMETRIA E CVG	46
6. PARTE EXPERIMENTAL.....	48
6.1. INSTRUMENTAÇÃO	48
6.2. REAGENTES E SOLUÇÕES	49
6.3. APARATOS	50
6.4. ESTRATÉGIA DE OTIMIZAÇÃO	50
6.5. PROCEDIMENTO GERAL.....	51
6.5.1 Estudo da concentração de hidróxido de sódio.....	51
6.5.2 Planejamento fatorial completo e planejamento Box-Behnken	51
6.5.3 Estudo dos reagentes auxiliares	52
6.5.4 Estudo de interferentes	52
6.5.5 Curvas de calibração	52
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
7.1. CONCENTRAÇÃO DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO.....	53
7.2. TRIAGEM DE VARIÁVEIS E OTIMIZAÇÃO DE FATORES	53
7.2.1. Planejamento fatorial completo	54

7.2.2. Metodologia de superfície de resposta – planejamento Box-Behnken.....	60
7.2.3. Testes com reagentes auxiliares	67
7.2.4. Comprimento do tubo de transporte	69
7.2.5. Volume de tetraidroborato de sódio	70
7.2.6. Interferências	71
7.2.7. Parâmetros analíticos	73
7.2.7.1. <i>Linearidade.....</i>	73
7.2.7.2. <i>Limites de detecção e quantificação.....</i>	75
7.2.7.3. <i>Faixa linear de trabalho.....</i>	76
7.2.7.4. <i>Precisão.....</i>	76
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	78
REFERÊNCIAS	80

1. INTRODUÇÃO

A geração química de vapor (CVG, do inglês *chemical vapor generation*) com tetrahidroborato é considerada uma estratégia de derivatização e técnica alternativa à introdução de amostras que vem sendo largamente estudada desde a sua primeira aplicação na década de 1970 por Braman et al. (1972) na determinação de arsênio e antimônio com tetrahidroborato de sódio. Previamente, Holak (1969) gerou espécies voláteis de arsênio a partir de uma solução ácida na presença de zinco. Como princípio tem-se a reação de um agente redutor em meio ácido com o asnalito, que promove a produção de espécies voláteis detectáveis por uma gama de combinações do sistema de introdução com técnicas espectrométricas, caracterizando-se um sistema regido por acoplamentos (D'ULIVO et al., 2011).

O primeiro trabalho publicado na literatura envolvendo um elemento químico diferente dos considerados elementos clássicos formadores de hidreto (As, Bi, Te, Ge, Sb, Se) foi desenvolvido por Sturgeon et al. (1996), no qual foi determinado cobre em diferentes matrizes ambientais utilizando a geração química de vapor como forma de introdução do analito ao sistema de detecção. Desde então, a CVG de outros elementos de transição tornou-se o foco de estudos voltados principalmente ao desenvolvimento de métodos analíticos e aplicação. No entanto, diferentemente dos clássicos formadores de hidretos, a dificuldade inerente à CVG de elementos de transição perpassa a instabilidade e reatividade do produto volátil, o que ocasiona na escassez de informações acerca da natureza das espécies voláteis que são geradas (D'ULIVO, 2016; D'ULIVO et al., 2011).

A espectrometria de absorção atômica é uma das técnicas de detecção mais utilizadas no campo da Química Analítica e o acoplamento com a geração química de vapor mostrou-se eficiente na determinação tanto de elementos clássicos formadores de hidretos quanto de metais de transição. Na determinação de metais de transição ainda há poucos trabalhos científicos que empregam a associação espectrometria de absorção atômica com fonte contínua de alta resolução e CVG, que, segundo Villanueva-Alonso et al. (2009), é bastante promissora devido ao uso da lâmpada de arco curto de xenônio e recursos vinculados à obtenção dos dados e visualização mais detalhada de um espectro resultante.

Com o foco em geração química de vapor de metais de transição, muitos elementos já foram explorados no que tange o desenvolvimento de métodos analíticos para determinação ou estudos de condições reacionais, como cobre, cobalto, níquel, zinco, ferro e manganês.

Além destes, cromo é um elemento cuja detecção após reação com agente redutor em meio ácido foi documentada e o processo pouco estudado em alguns artigos da literatura científica, compreendidos entre 1996 e 2011, todos utilizando CVG acoplada com espectrometria de absorção atômica com plasma indutivamente acoplado (CVG ICP OES).

O estudo da geração química de vapor de cromo é de importância na literatura científica uma vez que o tema é recente no que se refere aos metais de transição e pode auxiliar na compreensão de outros aspectos do sistema, como a influência de parâmetros químicos e físicos na reação e detecção.

No presente trabalho foi feito estudo da geração química de vapor de espécies inorgânicas de cromo em um sistema em batelada acoplado à espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) utilizando tubo de quartzo com aquecimento externo como atomizador. Buscou-se compreender como o sistema é afetado pelas variáveis estudadas, comparando e corroborando dados da literatura científica, assim como elucidando dúvidas acerca do tema. Lança-se mão de recursos quimiométricos – planejamento fatorial completo e metodologia de superfície de resposta – e univariados para observar e interpretar condições do sistema em questão.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Investigar e elucidar aspectos químicos e físicos da geração química de vapor de espécies inorgânicas de cromo.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Empregar planejamentos multivariados na avaliação e otimização de parâmetros químicos envolvidos na geração química de vapor de espécies de cromo;
- Investigar e comparar o comportamento das espécies de cromo(III) e cromo(VI) na geração química de vapor empregando tetrahidroborato de sódio;
- Empregar a espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS), atomização em tubo de quartzo aquecido externamente com uma chama e reação em batelada para obter a resposta analítica necessária para a investigação da geração de espécies voláteis de cromo.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. GERAÇÃO QUÍMICA DE VAPOR

A geração de espécies voláteis ou semi-voláteis para determinação de metais e metalóides é um modo de derivatização que ocorre por ação da natureza ou por forças antropogênicas. Em ambientes naturais, foram documentadas a existência de hidreto de estanho proveniente de sedimento marinho, hidretos metálicos em locais de tratamento de águas residuais, a metilação de elementos como As, Tl, Hg, Sn, Sb e Se por atividade bacteriana em ambientes marinhos e compostos metálicos de Mo e W em ambientes de tratamento de resíduos sólidos. Através de reações químicas, processos físicos ou biológicos, há em todas estas situações a formação de um produto que passa, necessariamente, de uma fase condensada para uma fase gasosa, e tal princípio tem sido largamente usado para propósitos analíticos (STURGEON; MESTER, 2002).

As espécies voláteis ou semi-voláteis podem ser produtos de várias reações – geração de hidretos, alquilação, geração de haletos, geração de vapor frio (para Hg e Cd) e uso de quelantes (β -dicetonas, ditiocarmatos, ditiofostafos, entre outros). Dentre estas reações, a geração de hidretos tem sido uma alternativa versátil frente às técnicas de derivatização e será discutida seguidamente.

Considerada inicialmente como técnica de geração de hidretos (HG, do inglês *hydride generation*) devido à sua fundamentação na formação de espécies voláteis desta natureza química, é o método mais antigo de vaporização de elementos, sendo aplicada por James Marsh nos anos de 1830 na geração de arsina (AsH_3) presentes em amostras forenses. Desde então, outras variações da técnica passaram a ser desenvolvidas, originando outros sistemas, como (STURGEON; MESTER, 2002):

- sistemas de redução metal-ácido
- geração termoquímica
- geração eletroquímica
- geração fotoinduzida
- sistema de redução com tetrahidroborato em meio ácido

Dentre estas variações da técnica de geração de hidretos, o sistema de redução com tetrahidroborato em meio ácido tornou-se a mais difundida e estudada no meio acadêmico.

Em linhas gerais, consiste em uma reação química de derivatização baseada na reação de um agente redutor com o analito em condições determinadas, resultando na produção de espécies voláteis. É considerada, também, uma técnica alternativa à introdução de amostras, visto que os diversos acoplamentos possíveis com espectrometria tornam a geração química de vapor um processo atrativo para a determinação de uma variedade de elementos químicos (STURGEON; MESTER, 2002). Atualmente, é também chamada de geração química de vapor, devido ao fato do produto ser gerado através de uma reação química e da natureza deste produto volátil ser, para certos elementos, diferente de hidreto ou desconhecida (CVG, do inglês *chemical vapor generation*).

Na década de 1960 as publicações de trabalhos científicos sobre geração química de vapor retomaram a importância na Química. Holak (1969) utilizou esta técnica para introduzir espécies voláteis de arsênio (AsH_3) em um espectrômetro de absorção atômica com atomização por chama, utilizando no meio reacional zinco em meio ácido e cloreto estanhoso (SnCl_2) como reagente para pré-redução de As (V) e, também, de Sb (V) e Se (IV). Seguidamente, Braman et al. (1972) utilizou o reagente tetrahidroborato de sódio na geração química de vapor de mercúrio, arsênio e antimônio para determinação por espectrometria de absorção atômica. Paulatinamente, os sais de tetrahidroborato passaram a integrar os sistemas de geração química de vapor em detrimento dos sistemas de redução metal-ácido.

Desde então, diversos trabalhos envolvendo o estudo e aplicação desta reação de derivatização à determinação de elementos como bismuto, germânio, estanho, selênio, chumbo e telúrio foram publicados. Estes elementos, juntamente com arsênio e antimônio são os denominados “clássicos formadores de hidretos”, composto volátil estável resultante da CVG (RAMESH KUMAR; RIYAZUDDIN, 2007).

A CVG de elementos considerados clássicos é atrativa pela alta eficiência de conversão do analito em a seu hidreto volátil, atingindo quase a totalidade presente na amostra sob condições determinadas, e a possibilidade de especiação sem a necessidade de instrumentos cromatográficos para separação. Em comparação com outras formas de introdução de amostras, como a nebulização pneumática, na qual somente em torno de 10% da amostra alcança a o sistema de atomização/excitação, o uso da CVG comparado a esta apresenta vantagens proporcionadas por efetiva separação do analito da matriz pela reação de derivatização, maior eficiência de transporte ao sistema de excitação/detector, alta seletividade em situações de diferenciação de espécies químicas, possibilidade de acoplamentos com técnicas que permitem a separação de compostos, promovendo a

especificação, e, também, todo o processo pode ser automatizado (D'ULIVO et al., 2011; POHL, 2004a; STURGEON; GUO; MESTER, 2005; TAKASE et al., 2002).

Ao longo dos anos o potencial da aplicação da CVG se expandiu para outros elementos, incluindo os metais de transição e metais nobres, na busca de aliar as vantagens desta técnica às determinações destes elementos em matrizes diversas. No entanto, comparando-se com os clássicos formadores de hidretos, a eficiência de CVG para metais de transição e nobres é baixa devido à instabilidade das espécies voláteis formadas, cuja natureza ainda não é bem definida, dificultando estudos de mecanismo e aplicações analíticas (RAMESH KUMAR; RIYAZUDDIN, 2007).

No âmbito da CVG de metais nobres, Pt, Pd, Ir, Ag, Au, Rh, Os e Ru são elementos que já foram estudados, tanto no desenvolvimento de método analítico quanto em observações a respeito do mecanismo de geração de espécies voláteis (CALVO FORNIELES et al., 2016; SMICHOWSKI; FARÍAS, 2000).

3.1.1. Mecanismo geral

A CVG pode ocorrer em condições tanto ácidas quanto básicas, porém, a mais difundida consiste na reação do agente redutor e analito em meio ácido, cujo mecanismo tem sofrido adaptações e modificações no intuito de estabelecer abordagens de acordo com os resultados de experimentos elaborados para elucidar a formação das espécies voláteis. Os agentes redutores mais utilizados são os sais de tetrahidroborato (KBH_4 e NaBH_4), sendo o de sódio o mais comum nos estudos das reações de CVG, desde sua síntese nos anos de 1950 (D'ULIVO et al., 2011).

Inicialmente, o mecanismo de reação a partir do “hidrogênio nascente” foi o primeiro a ser levantado no meio científico em 1979 por Robins e Caruso (apud D'ULIVO et al., 2011) a partir do estudo da formação de hidreto de zinco. Concebia-se a ideia de que o átomo de hidrogênio era um redutor em maior potencial quando comparado ao gás hidrogênio (H_2). Após estudos termodinâmicos avaliando-se os potenciais-padrão de redução das espécies envolvidas (1a e 1b), no século XXI, ficou comprovado que não era possível obter-se o átomo de hidrogênio no meio reacional (D'ULIVO et al., 2011).

$$E^0 (\text{H}^+/\text{H}) = -2,016\text{V} \quad (1\text{a})$$

$$E^0 (\text{H}_3\text{BO}_3/[\text{BH}_4]^-) = -0,482\text{V} \quad (1\text{b})$$

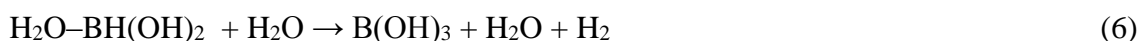
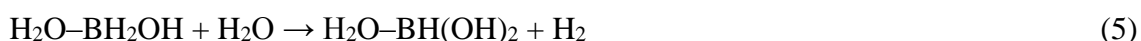
$$E^0 (\text{Zn}^{2+}/\text{Zn}) = -0,763\text{V} \quad (1\text{c})$$

Nos dias atuais, o mecanismo geral considera que ocorre uma transferência de hidrogênio oriundo de um complexo intermediário formado pelo analito e borano (ABC, do inglês *analyte-borane complex*). A Tabela 1 lista alguns artigos publicados com foco em estudos mecanísticos envolvendo CVG.

As etapas básicas do mecanismo da CVG são (D'ULIVO et al., 2011):

- a) decomposição do reagente borano e/ou derivados (através de reações catalisadas por espécies ácidas, seja H_3O^+ ou H_2O);
- b) reação do substrato com borano e/ou derivados, originando espécie volátil;
- c) reação do borano com concomitantes, formando co-produtos.

Estas reações podem ocorrer em condições alcalinas ou ácidas, sendo esta última a mais empregada, devendo-se possivelmente às etapas de preparo de amostra e de resistência dos boranos e derivados à hidrólise ácida (D'ULIVO et al., 2011). Em meio ácido e essencialmente aquoso, a CVG é caracterizada pela reação geral (2), cujas etapas seguem entre (3) e (6).



A espécie hidrolisada é representada somente por BH_4^- , mas quando o meio é alterado por valores de pH, diferentes tipos de ácido e na presença de espécies doadoras ou complexantes, pode ser caracterizada por $[\text{L}_x\text{BH}_{4-x}]^m$, onde $x=0-3$ e $m=0, \pm 1$, dependendo da natureza do ligante L (H_2O , NH_3 , OH^- , Cl^- , R_3N , RCOO^- ou RS^-) (POHL; PRUSISZ, 2007).

As espécies envolvidas nestas etapas quando o analito é um elemento clássico formador de hidreto são conhecidas e experimentos envolvendo reagentes deuterados foram essenciais à compressão do mecanismo de CVG (D'ULIVO, 2010).

Tabela 1. Publicações com foco em estudos de mecanismos de reação

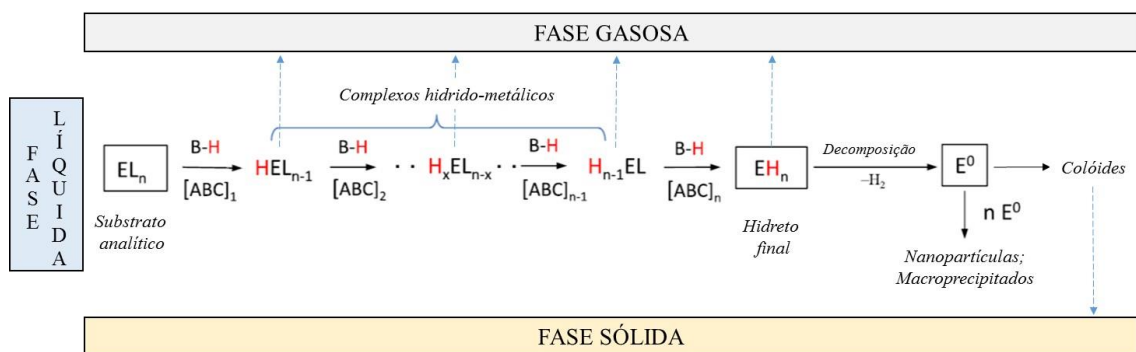
Título da publicação	Comentários	Referência
The mechanism of transition metal interference in hydride generation atomic absorption spectrometry	Mecanismo de interferência de Cu, Ni e Co na CVG de Se ocorre devido a reação dos interferentes preferencialmente com THB (tetrahidroborato). Decomposição catalítica do THB é etapa importante.	BAX et al., 1988
Insights into the mechanism of chemical vapor generation of transition and noble metals	CVG de Ag, Au e Rh foram estudadas; a formação de espécies voláteis relaciona-se com reação entre complexos do analito na fase aquosa com produtos da hidrólise de BH_4^- e reações superficiais entre intermediários (complexos hidridometálicos, que podem ser as espécies voláteis que alcançam o detector).	FENG et al., 2005
The mechanism of formation of volatile hydrides by tetrahydroborate(III) derivatization: A mass spectrometric study performed with deuterium labeled reagents	Estudo de mecanismo de formação de hidretos de As(III), Sb(III), Bi(III), Ge(IV), Sn(IV) e Se(IV) utilizando reagentes deuterados; proposição de um modelo de reação geral de CVG envolvendo reações primárias e com intermediários; mecanismo de formação do hidreto ocorre por transferência direta de H ligado ao boro ao átomo do analito.	D'ULIVO; MESTER; STURGEON, 2005
Mechanisms involved in chemical vapor generation by aqueous tetrahydroborate(III) derivatization. Role of hexacyanoferrate(III) in plumbane generation	Autores constataram que $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ aumenta significativamente a eficiência de CVG de Pb(II) através da formação de complexos intermediários “especiais”, com estrutura diferenciada, entre o reagente e NaBH_4 . A oxidação de Pb(II) a Pb(IV) e formação de complexos destas espécies com NaBH_4 não influencia na CVG.	D'ULIVO et al., 2008

Tabela 1. Continuação

Título da publicação	Comentários	Referência
Mechanism of generation of volatile species by aqueous boranes: Towards the clarification of most controversial aspects	Proposta de mecanismo geral de CVG para elementos clássicos formadores de hidretos, metais de transição e nobres evidencia: a formação de complexo analito-borano (ABC), a transferência direta de H ligado ao boro para substrato do analito (ML_n , onde M é metal ou semi-metal e L, ligante), originando complexo hidridometálico (MH_xL_y) e posteriormente o produto final. Novamente a hipótese do “hidrogênio nascente” é descartada.	D’ULIVO, 2010
Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC Technical Report)	Consiste em nota técnica que expõe e clarifica aspectos da CVG relacionados a mecanismos de hidrólise de complexos boranos e de transferência de hidrogênio ao substrato analítico, além da ação de alguns aditivos, concomitantes; a consequência do controle de diferentes condições reacionais e reatividade dos sistemas CVG.	D’ULIVO et al., 2011
Mechanisms of chemical vapor generation by aqueous tetrahydridoborate. Recent developments toward the definition of a more general reaction model	Novas evidências de mecanismo de interferência, de formação de co-produtos na geração de arsina (AsH_3), de síntese de nanopartículas e ação catalítica de metais na hidrólise de THB levam à proposta de novo modelo de reação “não-analítico”, diferente do “analítico” (THB em excesso em relação ao analito), sendo este mais geral e possibilita melhor visualização da complexidade do sistema CVG para metais e semimetais.	D’ULIVO, 2016

Sob condições analíticas de reação, ou seja, quando a concentração de tetrahidroborato está em excesso em relação ao analito, uma proposta geral pode ser aplicável para a compreensão do mecanismo para elementos clássicos formadores de hidretos e para metais de transição e nobres (Figura 1). Nela, é considerada a estabilidade do hidreto EH_n , o qual pode originar, também, nanopartículas e macroprecipitados, mas a estrutura do substrato analítico EL_n não é levada em consideração como um fator que pode conduzir a diferentes mecanismos de formação da espécie volátil, assim como alterar sua reatividade frente ao agente redutor (D'ULIVO, 2016). Observa-se que tanto os complexos hidrido-metálicos formados a partir do primeiro intermediário ABC_1 e do hidreto final, a partir do ABC_2 , podem compor a fase gasosa que é conduzida ao atomizador. Se muito instável, a decomposição do hidreto final ainda na fase gasosa leva à formação de nanopartículas, macroprecipitados e colóides, os quais passam a compor uma fase sólida pós-reação.

Figura 1. Proposta de mecanismo de CVG em meio aquoso com THB, na ausência de interferentes (ABC: intermediário complexo analito-borano; E: átomo do analito; L: ligante; B-H: boranos)

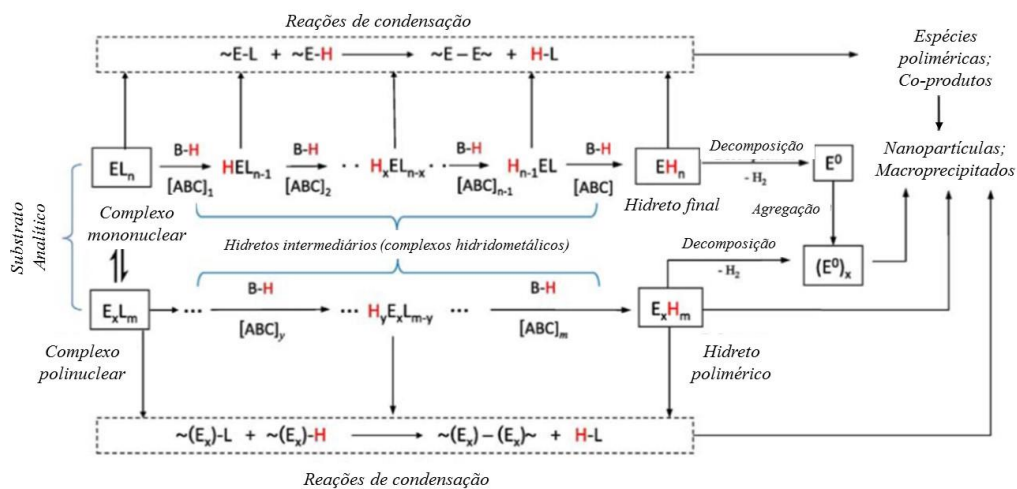


Fonte: Adaptada de D'ULIVO (2016) e D'ULIVO et al. (2011)

É desejável que a separação do produto volátil da fase líquida para a fase gasosa ocorra rapidamente e que o transporte ao atomizador seja também rápido e eficiente, mas uma dificuldade observada na CVG de metais é que esta etapa do processo é geralmente lenta, o que leva à formação de colóides, nanopartículas e macroprecipitados (D'ULIVO et al., 2011). Associada a este fato, a transferência de complexos hidridometálicos para a fase gasosa no caso de analitos metálicos também pode ser uma etapa determinante, visto que a instabilidade destas espécies tem sido considerada como um dos empecilhos para identificação dos produtos na fase gasosa (POHL; PRUSISZ, 2007).

Recentemente D'Ulivo (2016) evidenciou etapas complementares no mecanismo em condições consideradas não analíticas de reação, quando a relação entre THB/analito é baixa, e estabeleceu um modelo mais completo que abrange observações obtidas através de experimentos realizados com arsênio e antimônio quando o analito se apresentava em excesso em relação ao tetraidroborato e em condição de baixa acidez. A Figura 2 esquematiza a proposta do autor.

Figura 2. Modelo de reação sob condições não-analíticas de CVG de metais e semi-metais em meio aquoso com THB (ABC: intermediário complexo analito-borano; E: átomo do analito; L: ligante)



Fonte: Adaptada de D'ULIVO (2016)

Neste âmbito, acrescentou-se ao modelo o fato de que a forma como o analito está em solução (complexos mono ou polinucleares) levam à formação de hidretos poliméricos, os quais apresentam menor ou nenhuma volatilidade, comprometendo a eficiência da CVG e de que complexos hidridometálicos intermediários interagem tanto com o analito quanto com a espécie volátil através de reações de condensação, ocasionando na presença de moléculas de alto peso molecular. Ainda, a geração da espécie volátil e as reações de condensação são processos competitivos, cuja prioridade está relacionada à relação tetraidroborato/analito, ou seja, condições analíticas e não analíticas (maior e menor relação, respectivamente).

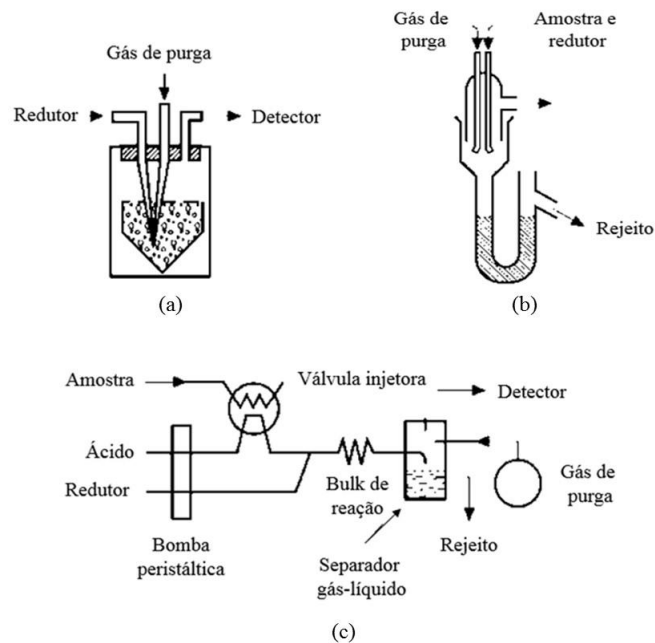
3.1.2. Instrumentação

A instrumentação para geração química de vapor consiste em acoplamentos de um sistema para introduzir a espécie volátil aliada a uma técnica para atomização/detecção. As etapas gerais do processo de CVG podem ser resumidas em (KUMAR; RIYAZUDDIN, 2010; POHL, 2004a):

- geração química do vapor (reação química);
- transporte dos produtos da reação até o atomizador;
- atomização/detecção.

A CVG, a separação e o transporte da espécie volátil e produtos co-gerados na reação (H_2 , $H_2O_{(g)}$, CO_2 , hidretos de boro) podem ser realizados em sistemas em batelada, fluxo contínuo ou por injeção em fluxo. Quando em batelada, a reação ocorre em um único compartimento; em fluxo contínuo, o reagente redutor e a amostra são direcionados separadamente até ocorrer a mistura destes e a reação; e por injeção em fluxo, o reagente redutor é conduzido por fluxo contínuo enquanto a amostra é injetada no sistema através de um fluxo de ácido carreador (POHL, 2004a; POHL et al., 2014). A Figura 3 exemplifica visualmente os três modos de sistemas para CVG.

Figura 3. Sistemas de introdução de reagentes e amostras via (a) batelada, (b) fluxo contínuo e (c) injeção em fluxo



Fonte: Adaptada de STURGEON; MESTER (2002)

O material dos aparatos (tubos de reação, tubos de transporte e de separadores gás-líquido) foi considerado em alguns estudos no intuito de diminuir efeitos de memória provocados pela aderência de espécies voláteis nas paredes dos tubos e conexões e resultando em perdas do analito. Dentre os materiais estão polímeros Ryton, vidro, vidro silanizado, vidro revestido com nylon (FENG et al., 2005; POHL et al., 2014).

Os acoplamentos com as técnicas de detecção são diversificados – espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), espectrometria de fluorescência atômica (AFS), entre outras. A depender do elemento de interesse, a introdução da amostra via CVG apresenta vantagens quando o analito encontra-se em níveis traço¹ de concentração na amostra, já que em muitos equipamentos com nebulização pneumática, como ICP OES, a maior parte da amostra é descartada, enquanto que o processo de CVG permite que, para os elementos clássicos formadores de hidreto, a eficiência de introdução seja em torno de 100% da espécie volátil, de modo a aumentar a sensibilidade da técnica para determinados analitos.

Considerando-se a CVG de metais de transição, em revisão sobre o assunto, Pohl et al. (2014) registraram trabalhos com associações com espectrometria de absorção atômica (HQT-AAS, IAT-FAAS, IAT-HQT-AAS, IAT-GF AAS), espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), com plasma induzido por microondas (MIP-OES) e espectrometria de fluorescência atômica (AFS). Ao todo, os autores reúnem informações acerca de 16 metais de transição² (Al, Ag, Au, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pd, Pt, Rh, Sc, V, Zn e Zr). Apesar da diversidade de associações, a mais comum da CVG é com AAS, que apresenta variedade nas formas de atomização e detecção.

Quando a CVG é acoplada à espectrometria de absorção atômica, a atomização pode ocorrer por chama, em tubo de quartzo aquecido externamente, em tubo com chama interna e em forno de grafite. A etapa de atomização torna-se necessária para dissociar o produto gerado em átomos e requer uma destas fontes de aquecimento, exceto para o elemento

¹A concentração de um elemento em nível traço corresponde àquela menor que 100 µg g⁻¹ segundo recomendações da IUPAC (NIČ et al., 2009).

²De acordo com a IUPAC, *metal de transição* é um elemento cujo átomo tem um subnível d incompleto ou origina cátions com esta característica. Além dos grupos 4 a 11, agregam-se os elementos do grupo 3, escândio (Sc) e ítrio (Y) (ATKINS et al., 2008).

mercúrio e cádmio, cujos hidretos são gerados pela técnica do vapor frio, CV AAS (do inglês *cold vapor atomic absorption spectrometry*), e se decompõe à temperatura ambiente (TAKASE et al., 2002).

Atomizadores para associação de CVG com AAS podem ser de dois tipos: on-line (quando o produto volátil formado é tão logo levado ao volume de observação do espectrômetro) ou “in-atomizer trapping” (quando o produto é armazenado em um coletor, podendo ser este o próprio atomizador, e posteriormente volatilizado ou atomizado). Dentre estes dois tipos, os atomizadores on-line são os mais difundidos e um dos tipos (tubo de quartzo) será abordado a seguir.

Tubos de quartzo são os tipos mais comuns de atomizadores on-line em CVG AAS. Se um tubo de quartzo convencional em forma de T (QTA, do inglês *quartz tube atomizer*) é utilizado e o aquecimento se dá externamente através de uma chama ar-acetileno ou resistência elétrica (EHQTA, do inglês *electric heated quartz tube atomizer*), a faixa de temperatura alcançada é entre 700 e 1100°C, temperatura insuficiente para a decomposição térmica das espécies voláteis, sendo o mecanismo associado, então, à presença de gás hidrogênio; a decomposição do reagente tetrahidroborato origina e mantém gás hidrogênio no meio. Estes tubos não apresentam entrada extra em sua estrutura para suprir a demanda de oxigênio para o processo de atomização e melhorar a sensibilidade, sendo que, quanto maior a temperatura alcançada no aquecimento, menor esta demanda externa (DĚDINA, 2007; TAKASE et al., 2002).

3.1.3. Interferências

A CVG, apesar de ser apresentada como uma técnica alternativa à introdução de amostras de alta seletividade e alta eficiência de separação do analito da matriz, está sujeita a interferências físicas e químicas que afetam a geração da espécie volátil, seja na formação destas, na separação da fase líquida e/ou durante a etapa de atomização. O tipo do sistema utilizado para geração, tipo de atomizador, acidez da solução/amostra, concentração do agente redutor e a ordem de mistura dos reagentes são fatores que podem afetar a magnitude da interferência, de modo que sempre que possível estes quesitos devem ser levados em consideração (KUMAR; RIYAZUDDIN, 2010).

Primeiramente, as interferências são comumente divididas em espectrais e não-espectrais. No caso de CVG, a qual é vastamente associada a técnicas espectrométricas de análise, as interferências espectrais são mínimas ou não ocorrem devido à eficiente separação do analito da matriz (TAKASE et al., 2002).

Dědina (1982) classificou as interferências não-espectrais em dois grupos: interferências na fase líquida e na fase gasosa. Interferências na fase líquida compreendem aquelas causadas pela composição da matriz, pela cinética de reação e liberação do produto volátil para a fase gasosa (interface). O mecanismo de reação de CVG com o analito está diretamente associado às interferências na fase líquida, o qual é afetado pela presença de metais de transição, metais nobres e dos elementos clássicos formadores de hidreto. Neste âmbito, a interação entre os reagentes e outra espécie presentes na solução durante CVG de um analito, independente de sua natureza, foi considerada por Dedina e Tsalev (1995). Nesta classificação mais específica, o foco é no interferente e no sistema em que atua, podendo causar interferências dos tipos (KUMAR; RIYAZUDDIN, 2010):

- íon-íon (analito na forma iônica – interferente na forma iônica): reagem entre si preferencialmente à reação com THB;
- íon-produto (analito na forma iônica – produto da reação de interferente com THB): ligam-se, causando redução na eficiência de CVG;
- hidreto-íon (interferente na forma iônica): hidreto gerado liga-se ao interferente;
- hidreto-produto: hidreto liga-se a produto da reação de interferente com THB;
- depleção de THB: interferente reage preferencialmente com o redutor.

O resultado visual dessas interações binárias e de interferência nem sempre leva à presença de sólidos dispersos ou colóides no meio reacional durante a CVG e, também, a formação destes materiais não causa interferência em todos os casos em que são visualizados.

Uma vez que a espécie volátil alcança a fase gasosa, outros tipos de interferências podem ocorrer, sejam elas durante o transporte do produto ou durante a atomização. O tipo de transporte do vapor (transferência direta ou indireta para sistema de atomização e detecção) afeta a CVG por perdas do analito, seja por adsorção em tubos e conexões, causando efeitos de memória, ou pela sua decomposição durante o trajeto. Na atomização, a interferência é causada pela presença de hidretos, espécies voláteis originadas de metais de transição e aerossol (D'ULIVO, 2010; DĚDINA, 2007).

3.1.4. Reagentes auxiliares

Uma estratégia utilizada para melhorar o desempenho do processo de geração química de vapor (eficiência e seletividade) tanto para elementos clássicos formadores de hidreto quanto para metais nobres e de transição é a introdução de reagentes auxiliares no sistema reacional. Também chamados de modificadores químicos ou aditivos, os reagentes auxiliares podem reagir com todos os componentes presentes no meio reacional, de modo que a ação destes em uma reação de geração química de vapor não é de fácil compreensão (D'ULIVO, 2010; POHL et al., 2014).

As propriedades dos reagentes auxiliares são variadas, podendo apresentar capacidade de oxi-redução, atuarem como ligantes e reagirem tanto com o substrato do analito, com o agente redutor ou com quaisquer outras espécies presentes em solução, interferindo na reatividade do sistema e na modificação de propriedades físicas do meio, como viscosidade e tensão superficial (VILLANUEVA-ALONSO et al., 2009).

Tanto no caso de elementos clássicos formadores de hidretos quanto no de metais de transição, reagentes auxiliares podem ser surfactantes, como Triton X100 e antiespumantes (antifoam A; antifoam B), líquidos iônicos, metais, complexantes ou quaisquer outros compostos que influenciem positivamente no sistema reacional. Considerando a formação dos hidretos clássicos, uso de aditivos como L-cisteína na CVG de germânio e arsênio, ferrocianeto de potássio para CVG de chumbo, tióis, íons metálicos e haleto na CVG de selênio, bismuto e telúrio são difundidas no meio científico, apesar do mecanismo que envolve a ação destes reagentes não ter sido elucidada em todas as situações (D'ULIVO, 2010; D'ULIVO et al., 2011).

Aditivos com enxofre em sua estrutura, como tioureia, sulfanilamida e L-cisteína, podem interagir com todos os componentes da matriz submetida à CVG, incluindo complexo borano, interferentes e produtos da reação. São largamente utilizados quando é desejada pré-redução do analito, como no caso de arsênio(V) e antimônio(V), mas seu uso não é garantia de aumento da resposta analítica. Alfa-hidroxiácidos, como ácidos láctico, málico e tartárico, podem interagir com o aquacomplexo $\text{BH}_3(\text{H}_2\text{O})$. Outra classe de reagentes auxiliares vastamente empregada na CVG é a de doadores bifuncionais, como 8-hidroxiquinolina, em cuja presença borano ou seu aquacomplexo interage, formando uma estrutura cíclica (D'ULIVO et al., 2011).

A hidrólise da espécie $[\text{BH}_4]^-$ catalisada por metais é uma forma indireta de causar um aumento da eficiência da reação de CVG. Metais como cobalto e platina podem auxiliar na geração de mais espécies instáveis e reativas de THB, atuando como catalisadores da reação de hidrogenação, pois formam hidretos instáveis, deixando livres espécies reativas de tetrahidroborato (KUMAR; RIYAZUDDIN, 2010; VILLANUEVA-ALONSO et al, 2009).

Na CVG de metais de transição, o desempenho da reação na presença de vários reagentes auxiliares foram testados: ditiocarbamato de amônio e pirrolidina (APDC), líquidos iônicos, dietil-ditiocarbamato de sódio (DDTC), brometo de didodecil dimetilamônio (DDAB), 1,10-fenantrolina, 8-hidroxiquinolina, surfactante Triton X-100 e agente antiespumante. A função dos reagentes auxiliares na CVG de metais de transição pode ser, além de aumentar a eficiência da reação, interferir nas etapas do processo formando intermediários mais estáveis e auxiliar na etapa onde o produto volátil deixa a solução (líquida) e passa para a fase gasosa (POHL et al., 2014).

Ácidos orgânicos tem sido estudados na CVG de metais como níquel e zinco, a exemplo de ácido tartárico, oxálico, cítrico e acético (MARRERO; SMICHOWSKI, 2002; SMICHOWSKI; FARÍAS; PÉREZ ARISNABARRETA, 2003). Villanueva-Alonso et al. (2009) utilizou 8-hidroxiquinolina em meio de ácido nítrico na determinação de Ag, Cd, Co, Cu, Ni e Zn em um sistema HG-QT-HR-CS AAS e verificou que este reagente atuou na modificação de propriedades físicas da solução, de modo que a redução da tensão superficial pode ter facilitado a liberação das espécies voláteis para a fase gasosa e para o sistema de detecção. Os autores ainda constataram que houve melhora da resposta analítica na presença conjunta de 8-hidroxiquinolina e cobalto, o qual foi considerado como catalisador devido à formação de hidretos instáveis, cuja decomposição destes favoreceu a formação de espécies voláteis de zinco e cádmio. Sulfanilamida, um reagente que possui átomos de nitrogênio e enxofre em sua estrutura, foi empregada por Silva et al. (2014) na otimização do sinal analítico de cobre e posterior determinação em matriz ambiental. Krawczyk e Matusiewicz (2013) estudaram a influência de DDTC e DDAB na CVG de ouro e constataram que o desempenho da reação melhora significativamente com o emprego de baixa concentração de DDAB. Zeng et al., (2012) testou ácido ascórbico, 8-hidroxiquinolina, ditizona, tiourea, 1,10-fenantrolina, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), DDTC e APDC para melhorar a resposta analítica de cobalto e níquel em um sistema CVG-AFS; o reagente APDC favoreceu o processo e foi empregado na reação em estudo.

3.2. GERAÇÃO QUÍMICA DE VAPOR DE METAIS DE TRANSIÇÃO USANDO SAIS DE TETRAHIDROBORATO

Em meio à consolidação da técnica de CVG de elementos clássicos formadores de hidretos e aplicações analíticas, metais de transição e nobres foram incluídos na lista de elementos que, quando submetidos à reação com o agente redutor tetrahidroborato em meio ácido, originam espécies voláteis. No entanto, a natureza de tais espécies é de difícil identificação devido principalmente à sua instabilidade.

O primeiro estudo sobre CVG de um metal de transição foi publicado por Sturgeon et al. (1996). Foram avaliadas condições de CVG para o elemento cobre (concentração de tetrahidroborato de sódio, tipo e concentração de ácido e fluxo de gás argônio), estimou-se a eficiência de geração (em torno de 50%) e supôs-se que as espécies geradas eram de natureza molecular e não atômica, apesar de não ter sido comprovada a hipótese.

Seguidamente, Luna et al. (2000) estudou a CVG dos metais Ag, Au, Cu, Zn, Cd e As em meio ácido com tetrahidroborato, utilizando tubo de quartzo aquecido acoplado a espectrometria de absorção atômica, e, apesar da identificação imprecisa das espécies geradas, concluiu que são moleculares. Um sistema de injeção em fluxo foi adaptado para adição de NaBH_4 e concentrações diferentes de ácido clorídrico foram estabelecidas para cada analito, variando de $0,6 \text{ mol L}^{-1}$ (Au, Cd e Cu) a $1,2 \text{ mol L}^{-1}$ (Ag, Zn e As).

Em 2002, Duan et al. estudou a CVG dos elementos Ag, Au, Cd, Co, Cu, Ni, Sn e Zn por ICP AES e tentou, sem sucesso, identificar, por ICP-MS, a natureza das espécies voláteis geradas pela reação dos elementos com tetrahidroborato em meio ácido, exceto para estanho, o qual gera hidretos (SnH_4). Determinou os referidos elementos em materiais de referência de aço de liga leve.

Esta variedade de elementos foi largamente estudada nos anos subsequentes por vários pesquisadores, acoplando principalmente as técnicas de espectrometria de absorção, emissão e fluorescência atômica. Além das condições de reação estudadas, aplicações em materiais de referência certificados (CRM, do inglês *certificate reference material*) de uma diversidade de matrizes – água (de rio, potável, de poço), sedimentos, solo, ligas metálicas, biológicas (vitaminas, fígado bovino, cabelo humano, hepatopâncreas de lagosta) – e em amostras reais. Silva et al. (2014) determinou cobre em material particulado atmosférico utilizando sistema CVG-QT-AAS; A CVG de outros metais de transição foi explorada em vários artigos. A Tabela 2 exemplifica a variedade estudada desde o primeiro trabalho publicado.

Tabela 2. Publicações sobre CVG de metais de transição e condições de reação, sistema de operação, tipo de técnica de detecção e de otimização da resposta analítica

Elemento	Condições de CVG	Operação	Deteccção	Otimização	Referência
Cu	HCl: 1,0 mol L ⁻¹ HNO ₃ : 0,3 mol L ⁻¹ NaBH ₄ : 1,2% (0,05% NaOH)	FC	ICP AES	Univariada	STURGEON et al., 1996
Ni	HCl: 0,12 mol L ⁻¹ KBH ₄ : 3,0% (0,5% KOH)	FC	ICP AES	Univariada	GUO et al., 2000
Ni	HCl: 0,3 mol L ⁻¹ NaBH ₄ : 1,0% (0,1% NaOH)	FC	ICP AES	Univariada	MARRERO; SMICHOWSKI, 2002
Zn	HCl: 1,0 mol L ⁻¹ NaBH ₄ : 0,75% (0,5% NaOH)	FC	ICP OES	Univariada	SMICHOWSKI; FARÍAS; PÉREZ ARISNABARRETA, 2003
Mo	HNO ₃ : 0,43 mol L ⁻¹ NaBH ₄ : 2,24% (0,4% NaOH) Cobalto: 1 mg L ⁻¹ 8-hidroxiquinolina: 38 mg L ⁻¹	CF	ICP OES	Multivariada	PENA-VAZQUEZ; VILLANUEVA-ALONSO; BERMEJO-BARRERA, 2007

Tabela 2. Continuação

Elemento	Condições de CVG	Operação	Deteção	Otimização	Referência
Ag	HNO ₃ : 0,6 mol L ⁻¹ NaBH ₄ : 2,4% (0,1M KOH)	IF	EHQTA-LS AAS ^a	Univariada	MUSIL et al., 2009
Fe	HCl: 0,075 mol L ⁻¹ NaBH ₄ : 0,5% (0,1 mol L ⁻¹ NaOH)	FC	ICP OES	Univariada	WELNA; LASOWSKA; ZYRNICKI, 2011
Mn	HCl: 0,05 mol L ⁻¹ NaBH ₄ : 1,0% (0,1 mol L ⁻¹ NaOH)	FC	ICP OES	Univariada	WELNA; LASOWSKA; ZYRNICKI, 2011
Co, Ni	HNO ₃ : 1,5% (v/v) KBH ₄ : 2,0% (a) APDC: 0,02% (m/v)	IF	AFS	Univariada	ZENG et al., 2012
Au	HCl: 0,5 mol L ⁻¹ NaBH ₄ : 2,0% (0,1% NaOH) DDAB: 0,001 mol L ⁻¹	FC	HR-CS AAS	Univariada	KRAWCZYK; MATUSIEWICZ, 2013
Cu	HCl: 0,21 mol L ⁻¹ NaBH ₄ : 4,6% (0,5% NaOH)	BA	QT-AAS	Multivariada	SILVA et al., 2014

BA: batelada; FC: fluxo contínuo; IF: injeção em fluxo; ^aEHQTA-LS AAS: Espectrometria de absorção atômica com fonte de linha e tubo de quartzo aquecido eletricamente

O tipo de ácido empregado no meio reacional da CVG de metais de transição tem sido estudado e, de acordo com recente revisão, ácido nítrico, clorídrico, sulfúrico e água régia (ácido clorídrico + ácido nítrico) são os mais avaliados e a ocorrência da reação química de gerção das espécies voláteis podem ocorrer com o uso de mais de um ácido inorgânico (POHL et al., 2014).

A identificação das espécies resultantes da CVG de elementos de transição permaneceu uma incógnita durante anos após os primeiros estudos devido à instabilidade e reatividade. O acoplamento de CVG com espectrometria de absorção atômica e de massas possibilitaram definir que a reação de cádmio com tetrahidroborato de sódio produz Cd^0 , átomos livres e espécies moleculares de cádmio (hidretos) e que, no caso de Ag e Au, são originadas nanopartículas, cuja composição elementar ainda permanece desconhecida (D'ULIVO, 2016).

A eficiência de CVG de metais de transição e nobres está relacionada com a etapa de separação da espécie volátil da solução, transporte e instabilidade dos complexos hidridometálicos ou hidretos metálicos formados durante a reação (POHL; PRUSISZ, 2007).

3.2.1. HR-CS AAS e CVG de metais de transição

O uso da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS, do inglês *high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry*) associada à CVG tem sido explorada nos últimos anos como uma forma de detecção promissora devido às vantagens trazidas pela visualização do espectro de forma mais completa, o que pode auxiliar na compreensão de mecanismos de interferências e, eventualmente, na identificação de produtos da reação (VILLANUEVA-ALONSO et al., 2009).

Um equipamento de HR-CS AAS tem como componentes principais uma lâmpada de xenônio de alta intensidade, um monocromador do tipo *double-echelle* e detector com arranjo de carga acoplada. Em comparação com espectrometria de absorção atômica com lâmpada de cátodo oco (LS AAS), onde lâmpadas de um único elemento e atualmente, monoelementares, restringiam o uso e aplicação do equipamento, o emprego de uma fonte contínua e intensa de radiação proporciona intensidades de emissão razoáveis para linhas diferentes das primárias, permitindo amplitude de aplicação da técnica. Além disso, a possibilidade de visualização da

vizinhança do espectro tridimensional fornece melhor compreensão do processo que está sendo estudado (WELZ et al., 2003).

Até o ano de 2009 somente um trabalho científico foi publicado empregando o acoplamento CVG-HR-CS AAS na determinação de elementos de transição, no qual Villanueva-Alonso et al. exploraram recursos do software para otimizar a detecção de Ag, Cd, Co, Cu, Ni e Zn, utilizou correção espectral para eliminar bandas de absorção de NO que afetavam a determinação de zinco. Nos anos seguintes, algumas publicações tem destaque: Krawczyk e Matusiewicz (2013) empregaram sistema na investigação de aspectos da geração química de vapor de ouro e determinação em materiais certificados; Silva et al. (2014) otimizou método para determinação de cobre em amostra ambiental.

4. CROMO

4.1. ASPECTOS GERAIS

O cromo é o elemento químico de número 24, situado no grupo dos metais de transição na tabela periódica, e apresenta configuração eletrônica [Ar] 3d⁵4s¹. Conhecido desde 1776, este elemento é disponibilizado aos ambientes naturais através de processos geoquímicos (erupções vulcânicas), erosão e lixiviação de rochas e solos e incêndios florestais, sendo constituinte de diversas matrizes ambientais e biológicas. Ao longo dos anos, atividades antrópicas relacionadas à indústria tem sido responsável pelo aumento da concentração de cromo nos compartimentos ambientais – solo, água e ar – pelo grande número de indústrias que o utilizam em processos. As aplicações do cromo na indústria é diversa e abrange desde a fabricação de couro, materiais têxteis, pigmentos e tintas ao tratamento de madeira, galvanoplastia, produção de materiais refratários e ligas metálicas (BIELICKA; BOJANOWSKA; WIŚNIEWSKI, 2005).

Sendo um metal de transição, o elemento cromo pode existir em vários estados de oxidação, desde 0 a +6, cujas estabilidades são diferentes e as mais comumente encontradas são as trivalente, Cr(III), e a hexavalente, Cr(VI). No meio ambiente, cromo hexavalente é mais encontrado associado a oxigênio na forma dos ânions cromato (CrO₄²⁻) ou dicromato (Cr₂O₇²⁻) e é solúvel em larga faixa de pH, enquanto que o cromo trivalente tende a precipitar na forma de hidróxido de cromo(III) em condições levemente ácidas e básicas do meio (DHAL et al., 2013).

O cromo trivalente é considerado um bioelemento; é necessário para a manutenção de processos fisiológicos de plantas e humanos. Nos seres humanos, traz benefícios como a redução da concentração de colesterol e triglicérides no sangue, redução da gordura corporal e aumento de massa muscular. Por outro lado, sua deficiência causa problemas e está relacionada a hipoglicemia, perda de peso, neuropatias, doenças cardiovasculares, entre outras (BIELICKA; BOJANOWSKA; WIŚNIEWSKI, 2005).

A toxicidade destas duas espécies de cromo apresenta distinções – enquanto a espécie trivalente é tida como essencial para metabolismos nos seres humanos e plantas, a espécie hexavalente é classificada como cancerígena pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA, do inglês *United States Environmental Protection Agency*), podendo causar danos no material genético humano. A principal causa da maior toxicidade ao ser humano

relacionada ao cromo (VI) deve-se à maior mobilidade de espécies formadas com este íon entre as membranas celulares (ANKE; IHNAT; STOEPLER, 2004). No solo, a presença de Cr(VI) pode prejudicar o crescimento natural de plantas e a concentração total de cromo no solo maiores que $100 \mu\text{M kg}^{-1}$ afetam seus processos metabólicos e fisiológicos (SHANKER et al., 2005).

A determinação de cromo em diversas matrizes já foi vastamente explorada e estudada e métodos como os que empregam técnicas espectrométricas de análise e espectrofotométricas tem sido aplicados em águas naturais, alimentos, solo e resíduos industriais. A espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) e com forno de grafite (GF AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) são técnicas muito utilizadas na determinação de cromo, sendo a GF AAS a mais comumente empregada. Métodos espectrofotométricos de análise na região do UV-Vis envolvendo a formação de complexo do reagente 1,5-difenilcarbazida (DPC) com a espécie hexavalente também é vastamente aplicado para cromo, inclusive como método padrão de determinação de cromo hexavalente em água no Brasil, estabelecido pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1996).

4.2. CVG E CROMO

O emprego de reações de derivatização para a determinação de cromo é uma estratégia de interesse crescente diante das possibilidades que esta técnica traz no campo da Química Analítica. A determinação deste metal de transição via formação de espécies voláteis e semi-voláteis tem sido investigada através da formação e exploração das propriedades (estabilidade térmica) de acetilacetatos e quelatos de cromo, utilizando como precursores reagentes da classe das β -dicetonas e quelantes como 8-hidroxiquinolina e técnicas espectrométricas de análise, principalmente absorção atômica e emissão atômica com plasma indutivamente acoplado e, também, técnicas cromatográficas (BER.MEJO-BARRERA et al., 2003; LIN; WHANG, 2007; WU et al., 2001; ZHU et al., 2002).

A evidência da existência de espécies voláteis de cromo geradas a partir da CVG com tetrahidroborato foi registrada por poucos autores desde a utilização desta técnica como alternativa à introdução convencional de amostras e com potencial aplicação para elementos de transição. Inicialmente, Wickstrøm et al. (1996) constatou que Cr e Fe também eram

transportados juntamente com Ni e Co ao sistema de atomização em ICP AES na forma de um fino aerosol. Pohl e Zyrnicki (2001) comprovaram experimentalmente que cromo reage com tetrahidroborato de sódio em meio ácido, gerando espécies voláteis, assim como os outros elementos de transição estudados (Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn and Ti). O sistema adotado de fluxo contínuo foi acoplado ao nebulizador pneumático do ICP AES e um separador gás-líquido foi introduzido no intuito de somente os produtos voláteis gerados pela CVG fossem conduzidos ao plasma. Foi também observado que a eficiência de transporte de Cr, Mn, Zn e Ti foi relativamente baixa se comparada aos outros elementos.

Em 2007, Peña-Vázquez et al. otimizou método em ICP OES para determinação de Ag, Au, Cd, Cu, Ni e Zn e observaram sinais analíticos referentes a espécies voláteis de cromo, cobalto, ferro e molibdênio durante estudos de interferentes para dois níveis de concentração nas condições adotadas para os analitos.

Um novo trabalho foi publicado em 2011, no qual Welna et al. exploraram a CVG de espécies inorgânicas dos metais Cr, Fe e Mn, no intuito de acrescentar informações sobre a reação aplicada a estes elementos utilizando o acoplamento com ICP OES como técnica de detecção. Os estudos anteriormente mencionados revelaram que a CVG de cromo pode ocorrer em meio de ácido nítrico e ácido clorídrico e Welna et al. corroboram a geração em ácido clorídrico, apesar de a CVG de ferro e manganês também ocorrerem em meio de ácidos acético e cítrico.

Welna et al. (2011) confirma em seu estudo a observação de que espécies de elementos em menores estados de oxidação apresentam maiores respostas analíticas quando comparadas a suas respectivas espécies com maior estado de oxidação, de forma que Cr (III) gera sinais analíticos maiores que Cr (VI), assim como o par Fe (II) / Fe (III) e Mn (II) / Mn (VII).

Segundo os esquemas reacionais de CVG (Figuras 1 e 2), esta reação com metais de transição dá origem a complexos hidridometálicos e alguns compostos e hidretos metálicos (compostos com ligações M–H) contendo cromo em sua estrutura já foram registrados na literatura científica. Em 1983, Moore e Robinson relacionaram a estabilidade de complexos hidridometálicos à natureza de ligantes (N, O, S, halogênios), como em $[\text{CrH}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$ e $[\text{RhH}(\text{NH}_3)_5]^{2+}$ e os compostos $(\text{H}_2\text{O})_5\text{CrH}_2^+$, CrH , $(\text{H}_2)\text{CrH}$, CrH_2 , $(\text{H}_2)\text{CrH}_2$, $(\text{H}_2)_2\text{CrH}_2$ foram isolados durante reações sob condições específicas em experimentos físico-químicos por Ryan e Espenson (1981, apud D'ULIVO, 2010) e Wang e Andrews (2003, apud D'ULIVO, 2010).

5. QUIMIOMETRIA E OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS

O termo “quimiometria” foi criado em 1971 pelo químico sueco Svant Wold em uma situação em que era necessário descrever um projeto em uma palavra de impacto e que evidenciasse o novo conceito de tratamento de dados químicos utilizando métodos multivariados. Desde então, o aparecimento do termo para designar a extração do máximo de informações químicas a partir de dados e aplicando métodos específicos foi disseminado e é oficialmente definido pela IUPAC como “a aplicação de estatística à análise de dados químicos (de química orgânica, analítica ou medicinal) e de planejamento de experimentos e simulações” (FERREIRA, 2015a; VAN DE WATERBEEMD et al., 1997).

Com um conjunto de conceitos matemáticos, estatísticos e químicos, a área da quimiometria é interdisciplinar e inserida no contexto experimental através da aplicação de estratégias experimentais como os planejamentos fatoriais e metodologias de superfície de resposta, é possível alcançar-se o objetivo de extrair o máximo de informações sobre sistema em estudo, uma vez que executando-se números pré-definidos de experimentos em condições estabelecidas pelos modelos matemáticos e analisando-se as respostas de cada combinação é possível estimar o comportamento desse sistema sob uma condição que pode não ter sido executado de fato (PEREIRA FILHO, 2015).

5.1. PLANEJAMENTO FATORIAL E METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Planejamentos fatoriais completos e fracionários constituem formas de triagem de variáveis que possam afetar de alguma maneira um dado sistema em estudo através da execução de experimentos com condições pré-estabelecidas.

Para melhor compreensão da aplicação de ferramentas quimiométricas, alguns conceitos são importantes na compreensão de um sistema a ser estudado por técnicas quimiométricas: variável, fator, efeito de um fator e interação. Uma variável constitui uma condição experimental (qualitativa ou quantitativa) a ser avaliada e que pode ou não influenciar no sistema; um fator é a variável que de fato interfere no sistema; um efeito é considerado como a mudança proporcionada pelo fator, seja aumentando ou diminuindo a resposta monitorada; e interação entre fatores é a situação na qual a influência no sistema de cada um deles é

diferente quando avaliados numa condição conjunta, em diferentes níveis, e pode acontecer entre 2 ou mais fatores (BARNETT et al., 2013).

Em um planejamento fatorial completo o número de experimentos é dado pela expressão $N = 2^k$, onde 2 representa os níveis em estudo (máximo e mínimo) e k a quantidade de variáveis selecionadas para serem avaliadas. Como exemplo, se para um sistema químico deseja-se fazer a triagem de três variáveis, sendo que cada uma delas compreende um domínio experimental com dois níveis (máximo e mínimo), o número de experimentos a serem executados será 2^3 , ou seja, 08 experimentos, combinando-se situações dentro de uma matriz de planejamento (Figura 4).

Neste tipo de ferramenta quimiométrica, os valores máximos, mínimos, e outros que venham a ser considerados dentro de um determinado domínio experimental são codificados, assumindo números inteiros (+1, -1). Esta codificação permite que variáveis em diferentes ordens de grandeza sejam avaliadas com o mesmo peso, evitando tendências relacionadas a magnitude do valor da grandeza, sendo esta mais uma vantagem proporcionada pelo uso da quimiometria (BEZERRA et al., 2008).

Figura 4. Matriz de planejamento fatorial completo de dois níveis para três variáveis

Experimento	Variável			Resposta
	X_1	X_2	X_3	
1	+1	+1	+1	Y_1
2	+1	+1	-1	Y_2
3	+1	-1	+1	Y_3
4	+1	-1	-1	Y_4
5	-1	+1	+1	Y_5
6	-1	+1	-1	Y_6
7	-1	-1	+1	Y_7
8	-1	-1	-1	Y_8

Pontos adicionais aos experimentos, chamados de pontos centrais, podem ser adicionados a planejamentos fatoriais com o intuito de trazer dinâmica experimental (à medida que réplicas não se tornam necessárias para cada ponto) e, ainda obtem-se estimativa de erros quando considera-se o valor médio (0) entre dos níveis empregados para todas as

variáveis. O número de pontos centrais corresponde entre 25 e 30% do número de experimentos previstos pelo planejamento fatorial. O emprego de pontos centrais também favorecem a qualidade do modelo linear já que estes pontos são intermediários dentro do domínio de cada variável e permite avaliar a adequação (ajuste) deste modelo (TEÓFILO; FERREIRA, 2006). O teste de curvatura utiliza as respostas obtidas na condição do ponto central para determinação do erro experimental do planejamento através da diferença entre as médias de resposta do planejamento e do ponto central e podem ser constatadas três situações de curvatura (C) na região do ponto central: $C > 0$ – condição de mínimo; $C < 0$ – condição de máximo e $C = 0$, não apresenta região de máximo ou de mínimo (FERREIRA, 2015b).

O processamento dos dados tem como resultado os efeitos, um valor calculado cuja interpretação é feita baseando-se em análise de variância (ANOVA) na qual a significância estatística dos efeitos e interações estarão discriminados. Estes efeitos podem apresentar valores positivos ou negativos, indicando se houve aumento ou redução na resposta monitorada. A visualização da magnitude dos efeitos e interações é dada pela representação em um gráfico, o gráfico de Pareto, no qual há uma delimitação estatística do t de Student e, quando um valor ultrapassa este limite, a variável ou interação é considerada como significativa para o sistema (BARNETT et al., 2013).

Os planejamentos fatoriais fracionários são outra forma de avaliar a influência de variáveis em determinado sistema quando a adição de variáveis consideradas (k) em um estudo aumenta o número de experimentos necessários (por exemplo, para k igual a 5 o total de ensaios é 32); então, lança-se mão de um número menor de experimentos em uma disposição que permite extrair, geralmente, as mesmas conclusões se um planejamento completo fosse executado (TEÓFILO; FERREIRA, 2006). Nestes planejamentos fracionários, é escolhida a fração que será diminuída do número total de experimentos; em um planejamento de dois níveis, este número é 2^{k-x} , onde k é a quantidade de variáveis e x a fração (1/2, 1/4; 1/8, etc).

A escolha da fração influencia diretamente na quantidade de efeitos que poderão ser mensurados e no número de experimentos a serem executados. O planejamento Plackett-Burman é um dos tipos mais simples de planejamento fracionário; nele, somente as informações acerca dos efeitos principais são obtidas e as interações são negligenciadas (MILLER; MILLER, 2010).

Uma vez feita a triagem das variáveis e definidos os fatores que tem influência (positiva ou negativa) sobre o sistema em estudo e/ou suas interações, a aplicação de metodologias de superfície de resposta (RSM, do inglês *response surface methodology*) permite obter um modelo matemático polinomial empírico que descreva adequadamente os dados experimentais em um processo de otimização dos fatores selecionados (BARNETT et al., 2013).

Modelos lineares representados pela equação 9 são os mais simples que podem ser utilizados para obtenção de uma superfície de resposta e permitem a visualização do comportamento dos fatores dentro do domínio experimental adotado. Na equação, k é o número de variáveis, β_0 é termo constante, β_i são os coeficientes lineares dos parâmetros, x_i representa as variáveis e ε , erro aleatório dos experimentos.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{1 \leq i < j \leq k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (9)$$

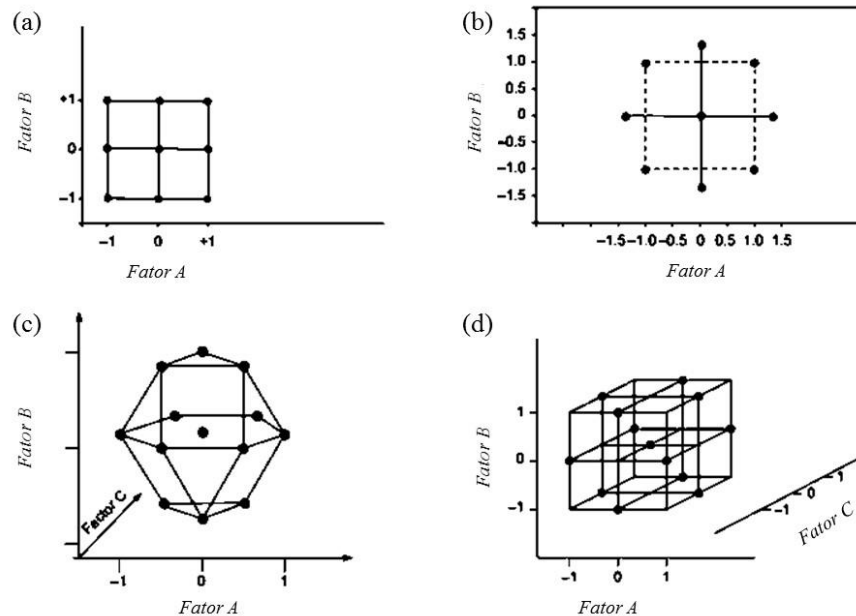
Para determinar a condição crítica ou ótima a qual resulta na melhor resposta analítica, são adicionados termos quadráticos à equação anterior, resultando na equação 10. Os experimentos a serem realizados para a construção da superfície de resposta que represente graficamente o modelo quadrático devem abordar os fatores em no mínimo três níveis.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{1 \leq i < j \leq k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (10)$$

Metodologias adaptadas para menos experimentos quando a quantidade de variáveis é maior que dois tem sido largamente utilizadas em processos de otimização, como planejamento Box-Behnken, planejamento composto central e matriz Doehlert, cujas estruturas espaciais das matrizes estão representadas da Figura 5 (BEZERRA et al., 2008).

A eficiência de um planejamento experimental é dada pela razão entre o número de coeficientes estimados pelo modelo resultantes e o número de experimentos. Com esta definição, comparando três metodologias de superfície de resposta, Ferreira et al. (2007) constatou que o planejamento Box-Behnken e a matriz Doehlert são mais eficientes que o planejamento composto central (CCD) e o planejamento fatorial completo de três níveis. Uma comparação entre as principais metodologias de superfície de resposta consta na Tabela 3.

Figura 5. Tipos de design simétricos de metodologias de superfície de resposta: (a) planejamento fatorial completo de três níveis; (b) design composto central (CCD); (c) matriz Doehlert para 3 fatores; e (d) planejamento Box-Behnken



Fonte: Adaptado de BARNETT et al. (2013)

Tabela 3. Comparação da eficiência entre planejamentos composto central (CCD), Box-Behnken (BBD) e Doehlert (DM)

Fatores (k)	Número de coeficientes (p)	Número de experimentos (f)			Eficiência (p/f)		
		CCD	DM	BBD	CCD	DM	BBD
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
6	28	77	43	61	0,36	0,65	0,46
7	36	143	57	85	0,25	0,63	0,42
8	45	273	73	113	0,16	0,62	0,40

Fonte: Adaptada de FERREIRA et al. (2007)

Um planejamento composto central (CCD), consta de um planejamento fatorial fracionário ou completo de dois níveis ao qual é adicionado um outro planejamento na forma de estrela, cujos pontos experimentais distam a partir de seu centro (ponto central). Na Figura

5b está representado CCD para otimização de duas variáveis. O número de experimentos é dado por $N = k^2 + 2^k + PC$, onde k é o número de fatores e PC o número de replicatas na condição do ponto central (como exemplo, para 2 fatores são 9 experimentos e para 3 fatores, 15). Todos os fatores são estudados em cinco níveis ($-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$), sendo os níveis $+1$ e -1 correspondentes ao planejamento fatorial completo e $+\alpha$ e $-\alpha$ ao planejamento estreja. O valor de α é dependente do número de variáveis e calculado pela expressão $2^{(k-p)/4}$ (BARNETT et al., 2013; BEZERRA et al., 2008).

A matriz Doehlert tem como principal característica a descrição espacial dos pontos no domínio experimental, que podem ser forma esférica (para duas variáveis forma um hexágono) e hiperesférica (para mais de três variáveis) e necessita de menos experimentos que o previsto para outros tipos de metodologias de superfície de resposta. O número de experimentos é dado pela mesma equação de um CCD, mas cada variável pode ser estudada em número de níveis distintos, com intervalos distribuídos igualmente. A Figura 5c exemplifica a disposição dos pontos experimentais em uma matriz Doehlert para 3 fatores. (BARNETT et al., 2013; BEZERRA et al., 2008).

Já em planejamento Box-Behnken a disposição dos pontos experimentais caracterizam-se por uma hiperesfera. O número de experimentos é dado por $N = 2k(k-1) + PC$, onde k é o número de fatores e PC o número de experimentos no ponto central. Todos os fatores são estudados a três níveis ($-1, 0, +1$). Em uma matriz de planejamento Box-Behnken, a combinação entre os níveis $+1$ e -1 não ocorre simultaneamente entre os fatores, fato que é considerado uma vantagem uma vez que esta combinação pode conduzir a resultados não desejados. A Figura 5d mostra a disposição espacial dos pontos experimentais no estudo de três fatores (BEZERRA et al., 2008; FERREIRA et al., 2007).

A análise do modelo quadrático e a adequação dos dados experimentais ao mesmo é feita por análise de variância dos resíduos das medidas experimentais e, também, associada ao parâmetro *falta de ajuste*, o qual indica por comparação de dados tabelados com o obtido pelo modelo se o mesmo representa satisfatoriamente o sistema estudado. As condições tidas como ótimas a partir deste modelo quadrático podem ser, com relação à resposta analítica, de máximo, mínimo ou de sela. A interpretação visual das superfícies de resposta permite verificar se esta condição está dentro do domínio experimental estabelecido (BEZERRA et al., 2008).

5.2. QUIMIOMETRIA E CVG

O uso das ferramentas quimiométricas para a compreensão das relações entre fatores químicos e físicos na geração química de vapor tem se tornado comum devido às vantagens associadas à essa prática. Dentre elas estão a execução de uma quantidade definida de experimentos, quantidade esta que é reduzida frente a outros meios de avaliação e de determinação de condições ótimas de resposta analítica, como os processos univariados, além de levar à economia de tempo e de reagentes, contribuindo para os princípios da química verde. A previsão de uma resposta analítica sem executar, de fato, o experimento, somente através da avaliação de análises estatísticas e a variedade de gráficos fruto do tratamento de dados é também um quesito atrativo da aplicação de planejamentos fatoriais e as metodologias de superfície de resposta para entender a CVG.

O estudo da CVG empregando quimiometria, de modo geral, tem ganhado espaço justamente devido às vantagens mencionadas anteriormente. No entanto, em revisão sobre CVG de metais de transição, Pohl et al. (2014) afirma que a otimização das variáveis e condições são geralmente realizadas de modo univariado.

Uma reação de CVG pode sofrer influência de vários fatores concomitantemente. Dentre os fatores mais estudados estão concentração do agente redutor, tipo de ácido, acidez do meio, fluxos de reagentes, amostra e gases, e comprimento de tubos de reação (se sistema em fluxo) ou tubo de transferência, composição de chama ar-acetileno ou temperatura de aquecimento (para atomização em tubo de quartzo com aquecimento externo ou elétrico, respectivamente) e concentração de reagentes auxiliares (POHL et al., 2014).

Um planejamento fracionário do tipo 2^{6-2} foi aplicado por Peña-Vazquez et al. (2007) com ponto central para estudar fatores que poderiam afetar a geração química de vapor e a determinação simultânea de Ag, Au, Cd, Cu, Ni e Zn por ICP OES – concentrações de NaBH_4 , de cobalto, de 8-hidroxiquinolina, concentração e tipo de ácido e fluxo de injeção de argônio. Para determinar condições críticas, foi aplicado um planejamento composto central ortogonal 2^4 com dois pontos adicionais ao centro e função desejabilidade³, sendo estas: [Co]

³ A função desejabilidade é um método de otimização simultânea de várias respostas desenvolvido por Derringer e Suich em 1980, cujas respostas assumem valor 1 (mais desejável) ou 0 (inaceitável). Obtem-se uma desejabilidade global (D) a partir das funções desejabilidade individuais (d_x): $D = \sqrt[m]{d_1 d_2 \dots d_x}$, onde m é média geométrica de d_x .

de 1,0 mg L⁻¹; [HNO₃] de 0,43 mol L⁻¹; [8-hidroxiquinolina] de 38 mg L⁻¹; [NaBH₄] de 2,24% (m/v) e fluxo de argônio de 0,74 L min⁻¹.

Villanueva-Alonso et al., em 2009, utilizou planejamento fracionário do tipo Plackett-Burmann para selecionar os parâmetros com maior influência na CVG de Ag, Cd, Co, Cu, Ni e Zn acoplada com HR-CS AAS, após determinação de condições prévias para CVG de cada elemento no que diz respeito a comprimento do tubo reacional e temperatura da célula de quartzo. Com a aplicação do planejamento fracionário, concluíram que tipo de ácido empregado na CVG e sua concentração foram as variáveis mais significativas. As condições ótimas de compromisso da CVG dos elementos foram: [Co] de 1 mg L⁻¹; [8-hidroxiquinolina] de 250 mg L⁻¹; [HNO₃] de 0,6 mol L⁻¹; [NaBH₄] de 1,75% (m/v) em NaOH 0,4% (m/v), exceto para Ag e Co, cuja CVG ocorreu em condições distintas das apresentadas.

Em 2011, Cerutti et al. utilizou planejamento fatorial completo e planejamento composto central para estudar e otimizar variáveis do processo de pré-concentração e CVG de escândio acoplado a ICP OES com sorção do elemento em minicoluna de carvão ativo.

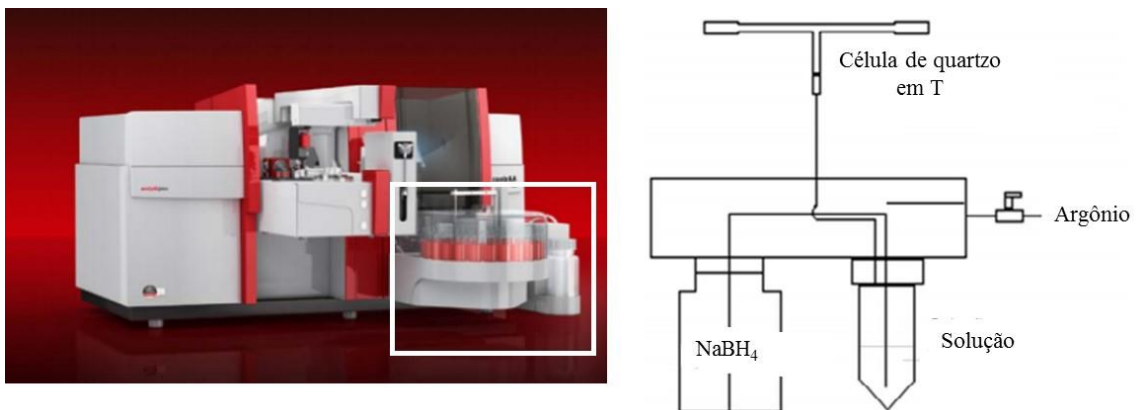
Silva et al. (2014) otimizou a CVG de cobre em um sistema CVG-QT-AAS aplicando planejamento fatorial completo de dois níveis para as variáveis químicas – concentração e volume de tetrahidroborato, concentração de ácido clorídrico e concentração de reagente auxiliar sulfanilamida – e variáveis físicas – composição da chama ar/acetileno, fluxo de tetrahidroborato, volume de álcool isoamílico (para evitar a formação de bolhas indesejáveis no frasco reacional) e volume inicial da solução de reação. Concentração de HCl exerceu maior influência sobre o sistema e o efeito negativo indicou que, quanto menor a concentração de HCl, maior a resposta analítica para cobre. Já a concentração de NaBH₄ teve efeito positivo e maiores concentrações do reagente favoreciam o aumento da resposta. A interação de maior efeito foi entre concentração de HCl e NaBH₄, a qual foi negativa, com efeitos antagônicos. Dentre as variáveis físicas investigadas pelos autores, o fluxo do agente redutor teve maior efeito negativo. Como SRM, aplicou o planejamento Box-Behnken para otimização dos fatores concentração de ácido clorídrico, concentração de tetrahidroborato e concentração de sulfanilamida. As condições otimizadas alcançadas foram: [HCl]: 0,21 M; [NaBH₄] de 4,6%; [sulfanilamida] de 0,79%; volume de NaBH₄ de 2,50 mL; fluxo de NaBH₄ de 6,50 mL min⁻¹; volume de álcool isoamílico de 200 µL; e volume final de solução de 7,0 mL.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. INSTRUMENTAÇÃO

A execução dos experimentos foi realizada em um sistema em batelada adaptado em módulo HS50 de geração de hidretos (Analytik Jena, Jena, Alemanha). O módulo consiste em um recipiente para a solução de borohidreto e um dispositivo para injeção do reagente diretamente na solução contendo analito. O reator é um tubo de centrífuga de 50 mL, o qual é enroscado na adaptação do módulo (Figura 6). Um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS), modelo ContraAA 700 (AnalytikJena, Jena, Alemanha) equipado com lâmpada de arco curto de xenônio de alta intensidade de emissão foi utilizado para realização das medidas de absorvância de cromo na sua linha primária, mais sensível, de comprimento de onda 357,8789 nm. A caracterização de outros parâmetros do sistema empregado na determinação de cromo é mostrada na Tabela 4.

Figura 6. Equipamento de HR-CS AAS (Contraa 700, Analytik Jena) e desenho esquemático do módulo HS 50 com célula de quartzo T



Fonte: Dados técnicos Analytik Jena®
(www.analytikjenaromania.ro/sites/default/files/td_contrAA_700_en.pdf)

Tabela 4. Parâmetros instrumentais de trabalho do sistema CVG-HR-CS AAS

Parâmetro	Condição operacional	
Comprimento de onda (Cr)	357,8789 nm	
Correção de fundo	IBC ^a	
Registro de sinal	Absorvância por área de pico	
Número de pixels da medida	5 (CP±2 pixels) ^b	
Vazão da chama acetileno-ar	0,136 (60 Lh ⁻¹ acetileno/440 Lh ⁻¹ ar)	
Altura do queimador	13 mm	
Dimensões da célula de quartzo T	Comprimento: 140 mm Diâmetro interno da sessão intermediária: 16 /8 mm com janelas de quartzo destacáveis	
Modo de operação	Batelada	
Unidade de reação	Frasco cônico com volume máximo de 50 mL	
Gás argônio	Pureza	99,99%
	Pressão de entrada	3-6 bar
	Operação da pressão	0,5 bar
	Fluxo de gás:	F1 = 15 L h ⁻¹ (gás de transporte) F2 = 12 L h ⁻¹ (gás de purga)

^aIBC: interactive background correction; ^bCP: central pixel

6.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes utilizados nos ensaios foram de grau analítico e soluções foram preparadas com água ultrapura (18 MΩ cm), produzida por sistema de purificação de água Milli-Q da Millipore (Bedford, MA, EUA). Soluções estoque de Cr(III) e Cr(VI) 1000 mg L⁻¹ foram preparadas a partir de nitrato de cromo (III) nonahidratado, Cr(NO₃)₃.9H₂O (Sigma Aldrich), e dicromato de potássio, K₂Cr₂O₇ (Vetec[®]). Ácido clorídrico de concentração 6 mol L⁻¹ foi preparado a partir de diluição do reagente concentrado 37% (v/v) (J. T. Baker[®]). Soluções de tetrahidroborato de sódio, NaBH₄ (Sigma Aldrich[®]), destinadas ao estudo de otimização foram preparadas por dissolução em solução de hidróxido de sódio 0,05% (m/v) (Merck[®]), sendo esta preparada em água ultrapura.

Soluções 10% (m/v) dos reagentes auxiliares ácido oxálico (Merck[®]), ácido tartárico (Merck[®]), 8-hidroxiquinolina (Merck[®]) e tiourea (Merck[®]) foram preparadas com dissolução

da massa apropriada em água ultrapura; à solução de 8-hidroxiquinolina foi adicionado álcool etílico 98% (v/v) (Merck®). Solução 1% de sulfanilamida (Vetec®) foi preparada dissolvendo-se massa apropriada em água ultrapura e ácido clorídrico 6 mol L⁻¹, com o auxílio de banho ultrassônico. Solução estoque 1000 mg L⁻¹ de cobalto (Specsol®) também foi utilizada no estudo de reagentes auxiliares. Solução 0,5% de 1,5-difenilcarbazida (Merck®) foi solubilizada em acetona (PA, Merck®). Solução 8 mol L⁻¹ de ácido sulfúrico foi preparada a partir de diluição do reagente concentrado 98% (v/v).

Soluções estoque de 1000 mg L⁻¹ para absorção atômica (Specsol®) de Ni, Fe, Al, Cu, V, S e Mn foram utilizadas no estudo de interferência.

Todos os materiais – vidrarias e materiais plásticos – foram descontaminados em banho de ácido nítrico 10% (v/v) por 24h, lavados com água ultrapura e dispostos para secagem. A célula de quartzo e tubo condutor do vapor químico gerado também foram submetidos ao mesmo processo de descontaminação.

6.3. APARATOS

Balança analítica (Sartorius Analytic, Göttingen, Alemanha) foi utilizada para pesagem das massas de sais de cromo e reagentes auxiliares. Um banho ultrassônico modelo USC - 1850 UNIQUE (Indaiatuba, São Paul, Brasil) foi empregado para auxiliar na solubilização de sulfanilamida.

6.4. ESTRATÉGIA DE OTIMIZAÇÃO

Os planejamentos fatoriais completos de dois níveis e a metodologia de superfície de resposta Box-Behnken foram avaliados a partir das respostas analíticas de sinais de absorvância, considerando-se área integrada, e os erros foram calculados baseados em triplicatas do ponto central. Os dados foram tratados no software Statistica 7.0 (análise estatística, gráficos e superfícies de resposta).

6.5. PROCEDIMENTO GERAL

6.5.1 Estudo da concentração de hidróxido de sódio

Foram preparadas soluções de NaOH com concentrações de 0,01% a 0,05% (m/v). A massa correspondente foi pesada em balança analítica e dissolvida em água ultrapura. Neste ensaio, as soluções de Cr(III) e Cr(VI) foram de 100 mg L⁻¹ e fixou-se a concentração de NaBH₄ em 1,0% (m/v) e de HCl em 0,075 mol L⁻¹.

6.5.2 Planejamento fatorial completo e planejamento Box-Behnken

As soluções aplicadas no estudo da CVG de cromo nos planejamentos fatoriais completos e Box-Behnken foram preparadas a partir de diluição de volume apropriado de solução estoque de cromo (III) ou cromo (VI) 1000 mg L⁻¹ em frascos reacionais de 50 mL, com concentração final de 100 mg L⁻¹ e volume inicial de 5 mL, completos com água ultrapura. Solução do agente redutor, NaBH₄, foi preparada diariamente por dissolução em solução de NaOH 0,05% (m/v), também preparada diariamente. Em cada experimento, o frasco reacional contendo 5 mL da solução padrão e volume apropriado de ácido clorídrico 6 mol L⁻¹ correspondente à condição do ponto experimental foi, então, acoplado ao módulo de geração e 2 mL de NaBH₄ a uma vazão correspondente ao experimento foram introduzidos no sistema reacional. Espécies voláteis de cromo geradas foram transportadas com auxílio de gás carreador argônio para a célula de quartzo localizada no caminho óptico do espectrômetro, a qual está sob aquecimento de uma chama ar-acetileno de composição 60 L h⁻¹ de acetileno/440 L h⁻¹ de ar (razão 0,136).

As condições otimizadas para ácido clorídrico, NaBH₄ e vazão de NaBH₄ para determinação de cromo foram: [HCl] de 0,076 mol L⁻¹, NaBH₄ 0,79% (m/v) a uma vazão de 15,2 mL min⁻¹; para Cr(III) e [HCl] de 0,070 mol L⁻¹, NaBH₄ 0,85% (m/v) a uma vazão de 15,4 mL min⁻¹, respectivamente. Foram mantidas a razão da composição da chama ar-acetileno em 0,136 e comprimento do tubo de transporte do vapor das espécies voláteis em 36 cm. Estas condições foram adotadas na execução dos experimentos seguintes.

6.5.3 Estudo dos reagentes auxiliares

No estudo da influência dos reagentes auxiliares, juntamente com a solução padrão de cromo 10 mg L^{-1} , foram adicionados volumes apropriados das soluções 10% (m/v) de ácido oxálico, ácido tartárico, 8-hidroxiquinolina e tiourea, da solução 1% (m/v) de sulfanilamida e da solução estoque 1000 mg L^{-1} de cobalto, separadamente, no intuito de verificar a influência de cada reagente auxiliar na CVG de ambas espécies de cromo. Solução de 1,5-difenilcarbazida 0,5% (m/v) em acetona foi introduzida ao sistema reacional de Cr(VI) na presença de ácido sulfúrico para formação de complexo. Após estes testes, nenhum reagente auxiliar foi adicionado à solução.

6.5.4 Estudo de interferentes

No estudo de interferência, volumes apropriados de soluções estoque de 1000 mg L^{-1} de Ni, Fe, Al, Cu, V, S e Mn foram adicionados ao frasco reacional de 50 mL com solução de Cr(VI) 50 mg L^{-1} .

6.5.5 Curvas de calibração

As curvas de calibração externa foram realizadas com soluções de cromo de concentrações até 100 mg L^{-1} sob as condições otimizadas de concentração de HCl, NaBH_4 e vazão de NaBH_4 e dos parâmetros físicos (comprimento do tubo de transporte e composição da chama ar-acetileno).

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1. CONCENTRAÇÃO DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO

Neste estudo preliminar, avaliou-se a concentração de hidróxido de sódio (NaOH) utilizada para estabilizar o reagente redutor (NaBH_4). Os ensaios foram realizados com NaBH_4 de concentração 1,0% (m/v) e HCl de concentração $0,75 \text{ mol L}^{-1}$. Estas condições foram escolhidas com base em dados da literatura. A concentração de NaOH utilizada influencia nas condições de acidez no meio reacional. Segundo D'Ulivo et al. (2011), a reação já promove a formação de um tampão borato, cujo pH do tampão próximo de 9 resulta em condição que proporciona a precipitação.

Testou-se uma faixa de concentração entre 0,01% e 0,05% (m/v) de NaOH e foi constatado com que a reação de agente redutor com espécies de Cr(III) e Cr(VI) em meio ácido quando a concentração de NaOH de 0,05% foi utilizada para estabilizar NaBH_4 apresentou maiores valores de absorvância para as espécies. Soma-se a este resultado o fato de que o uso desta concentração de NaOH proporcionou menor turvação na solução pós-reação, indicando que houve menos precipitação de cromo na forma de hidróxido de cromo (III), $\text{Cr}(\text{OH})_3$, cujo produto de solubilidade, K_{ps} , é baixo ($7,0 \times 10^{-31}$, a 25°C). Valores de pH acima de 5 já promovem a precipitação de Cr(III) na forma de hidróxido (ANKE; IHNAT; STOEPLER, 2004). Determinou-se, então, que a concentração de NaOH utilizada para preparar as soluções do agente redutor é de 0,05% (m/v).

7.2. TRIAGEM DE VARIÁVEIS E OTIMIZAÇÃO DE FATORES

Nesta etapa foram realizados experimentos no intuito de avaliar as variáveis que influenciam na CVG de espécies inorgânicas de cromo – Cr(III) e Cr(VI) – e determinação de condições ótimas do processo através de planejamento fatorial completo seguida de aplicação de metodologia de superfície de resposta Box-Behnken.

7.2.1. Planejamento fatorial completo

No planejamento fatorial completo de dois níveis foram considerados três variáveis comumente estudadas na geração química de vapor tanto de elementos clássicos formadores de hidretos quanto de elementos de transição – concentração de ácido, concentração de tetraidroborato de sódio e, neste caso onde é empregado um sistema em batelada, o fluxo de introdução do agente redutor no frasco reacional. O ácido clorídrico é um dos ácidos mais empregados na CVG. Em estudo da geração de vapor químico de cromo, Welna et al. (2011) constatou que o processo não ocorre em ácido acético e ácido cítrico, mas sim em ácido clorídrico.

Os domínios experimentais das variáveis foram escolhidos após vasta revisão bibliográfica. Os valores reais e codificados destes domínios e respectivas unidades de medida, a matriz do planejamento e as respostas analíticas são expostas na Tabela 5. Os experimentos foram executados para ambas as espécies inorgânicas de Cr(III) e Cr(VI), a uma concentração de 100 mg L^{-1} . Foram fixados o volume final de solução de 5 mL tendo como reator um tubo de centrífuga Corning® de 50 mL, o volume de NaBH_4 introduzido no sistema e a razão da chama ar-acetileno foram 2 mL e 0,136, respectivamente. As medidas de absorvância em termos de área de pico foram realizadas em triplicata e tempo de integração de 30 segundos.

Os dados dos planejamentos fatoriais foram avaliados através do software Statística 7.0. Na Tabela 6 são mostrados os efeitos e interações constatadas juntamente com o intervalo de confiança a 95%.

Tabela 5. Dados experimentais dos planejamentos fatoriais completos 2^3 referentes à CVG de Cr(III) e Cr(VI)

Exp	[NaBH ₄] (%, m/v)	Vazão de NaBH ₄ (mL min ⁻¹)	[HCl] (mol L ⁻¹)	ABS Cr(III)	ABS Cr(VI)
1	+1 (1,5)	+1 (20)	+1 (1,0)	0,01220	0,00948
2	+1 (1,5)	+1 (20)	-1 (0,05)	0,04444	0,03838
3	+1 (1,5)	-1(12)	+1 (1,0)	0,03039	0,06103
4	+1 (1,5)	-1(12)	-1 (0,05)	0,03363	0,03328
5	-1 (0,5)	+1 (20)	+1 (1,0)	0,02080	0,03902
6	-1 (0,5)	+1 (20)	-1 (0,05)	0,08553	0,02753
7	-1 (0,5)	-1(12)	+1 (1,0)	0,01920	0,01789
8	-1 (0,5)	-1(12)	-1 (0,05)	0,20091	0,14827
PC	0 (1,0)	0 (16)	0 (0,525)	0,03416	0,07494
PC	0 (1,0)	0 (16)	0 (0,525)	0,04809	0,08856
PC	0 (1,0)	0 (16)	0 (0,525)	0,04395	0,07918

PC: ponto central

Tabela 6. Efeitos e interações significativos

Efeitos e interações	Cr(III) ± IC	Cr(VI) ± IC
[HCl]	-0,0705 ± 0,0022	-0,0300 ± 0,0025
[NaBH ₄]	-0,0515 ± 0,0025	-0,0226 ± 0,0025
Vazão de NaBH ₄	-0,0303 ± 0,0025	-0,0365 ± 0,0025
[HCl] x [NaBH ₄]	+0,0527 ± 0,0025	+0,0294 ± 0,0025
Vazão de NaBH ₄ x [NaBH ₄]	+0,0266 ± 0,0025	+0,0133 ± 0,0025*
Vazão de NaBH ₄ x [HCl]	+0,0220 ± 0,0025	+0,0213 ± 0,0025
Vazão de NaBH ₄ x [HCl] x [NaBH ₄]	-0,0365 ± 0,0025	-0,0496 ± 0,0025

IC: intervalo de confiança ($\alpha=0,05$)

(*) Interação não significativa a nível de confiança de 95%

O resultado do planejamento fatorial completo para cromo (III) indica que todos os fatores e suas interações, tanto entre dois quanto entre três deles, foram significativos em maior ou menor magnitude. O fator que exerceu maior influência independentemente foi a concentração de ácido clorídrico com valor negativo, de modo que menores concentrações tendem a aumentar a resposta analítica (absorvância). Seguidamente, a concentração de

tetrahidroborato também apresentou-se como significativo e com valor negativo. Tais constatações estão de acordo com a literatura científica, a qual registra que a tendência nas concentrações de ácido clorídrico e tetrahidroborato na CVG de metais de transição é que seja menor que aquelas estabelecidas para os elementos clássicos formadores de hidretos. Maiores concentrações de ácido na solução influenciam na reação de hidrólise do ânion borato (4), $[\text{BH}_4]^-$, gerando mais átomos de hidrogênio no meio e, ocasionalmente, resultando na diluição das espécies voláteis e, conseqüentemente, menor resposta analítica.



Os gráficos das médias marginais apresentados na Figura 7 auxiliam na compreensão visual do comportamento do sistema diante de interações significativas. Dentre as interações, a mais significativa foi entre $[\text{HCl}]$ x $[\text{NaBH}_4]$ (Figura 7a), cujo valor positivo indica que o efeito provocado por essa interação é sinérgico, de modo que, quando as concentrações de ambos variam no mesmo sentido do domínio experimental, ocorre aumento da absorvância, a qual é quase a mesma quando a concentração de HCl está no nível superior de concentração (+1) e a concentração de NaBH_4 é variada. A maior variação de absorvância é observada quando concentração de HCl está no nível inferior (-1) e diminui-se a concentração de NaBH_4 . Esta mesma constatação de efeito sinérgico é apresentada na Figura 7b para a interação entre concentração de NaBH_4 e sua vazão, de modo que, quando a vazão está no nível inferior (-1) e concentração de NaBH_4 assume menores valores, observa-se maior variação de absorvância. Não foram constatadas interações binárias com valores negativos, as quais apresentariam efeito prático antagônico no sistema em estudo para cromo trivalente, mas a interação de terceira ordem foi significativa e com valor negativo. As médias marginais desta interação é observada na Figura 7c, que mostra que quando a vazão é fixada no menor nível (-1) e a concentração de HCl diminui, maiores variações de absorvância são verificadas quando NaBH_4 está, também, no menor nível, de modo que resulta em uma interação de efeito negativo sobre o sistema. O gráfico de Pareto resultante do planejamento para Cr(III) sintetiza a significância das variáveis e suas interações (Figura 8).

Figura 7. Gráficos das médias marginais para estudo dos efeitos de interação (a) [HCl] x [NaBH₄], (b) Vazão x [NaBH₄] e (c) [HCl] x [NaBH₄] x Vazão, referentes a CVG Cr(III)

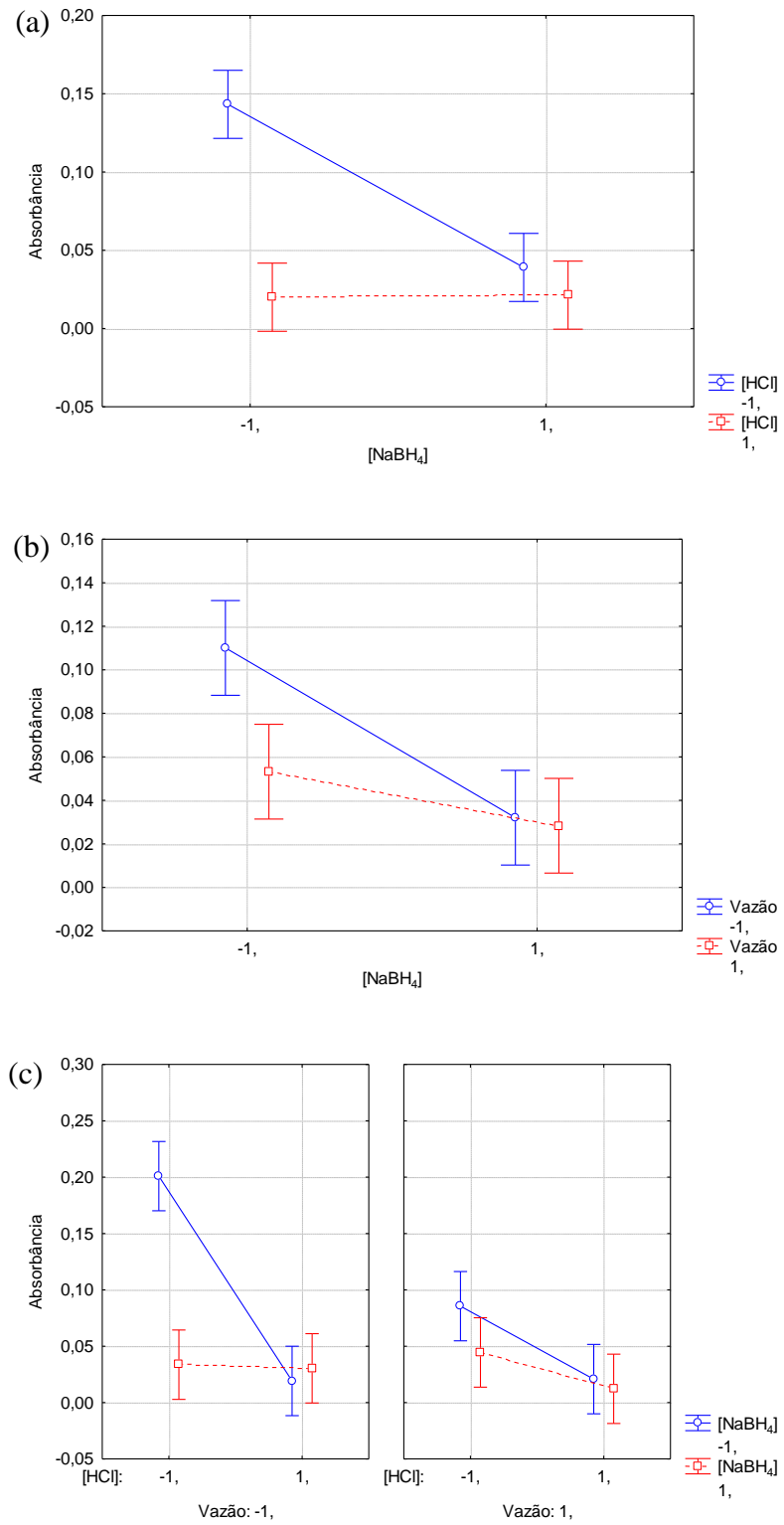
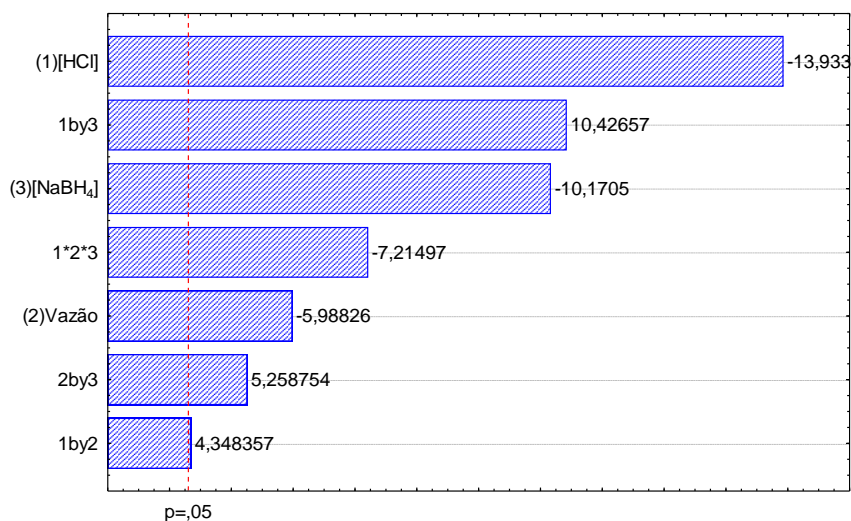
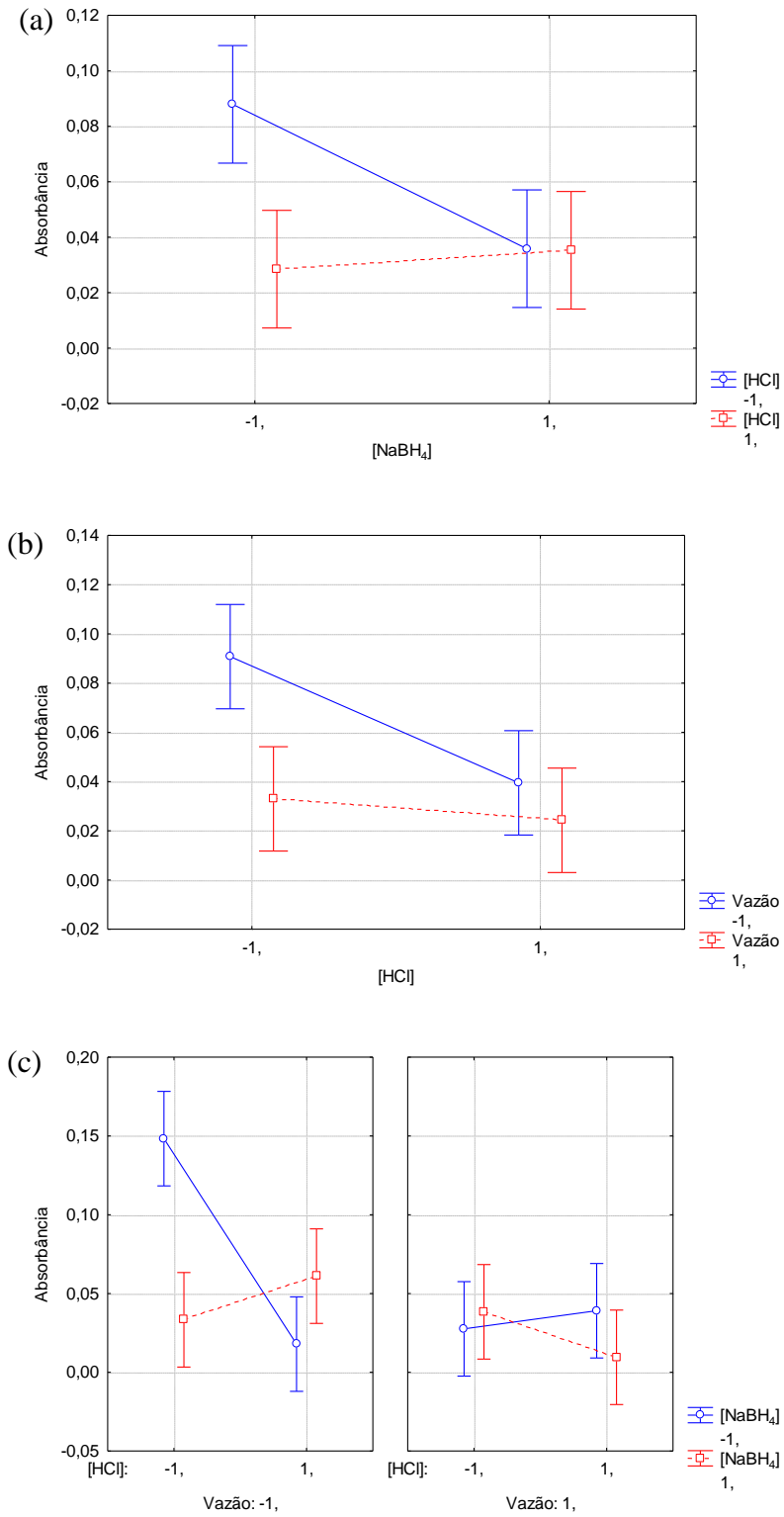


Figura 8. Gráfico de Pareto em função dos valores da estatística de teste t referente planejamento fatorial completo de CVG de Cr(III) com NaBH₄



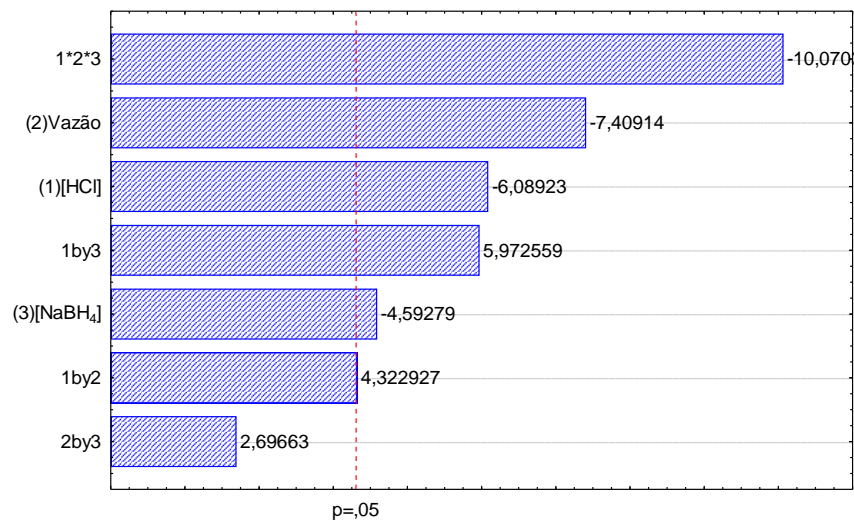
Considerando a espécie cromo (VI), o fator mais significativo foi a vazão de borohidreto, com valor negativo. Concentração de ácido clorídrico e de borohidreto também foram significativos, individualmente, com valores negativos, corroborando o mesmo constatado para a espécie trivalente, cujo resultado aponta para as conclusões contidas na literatura científica. Em termos de interações, a Figura 9 ilustra os gráficos das médias marginais. A mais significativa e com efeito negativo foi a de terceira ordem (Vazão de NaBH₄ x [HCl] x [NaBH₄]), seguida da interação entre [HCl] x [NaBH₄] (Figura 9a), com valor positivo, indicando o mesmo observado para o sistema de cromo trivalente, e entre [HCl] e vazão de NaBH₄ de valor positivo (Figura 9b). O efeito sinérgico destas interações é claramente observado quando ocorre maior variação de absorvância quando [HCl] e vazão de NaBH₄ assumem os níveis menores (-1).

Figura 9. Gráficos das médias marginais para estudo dos efeitos de interação (a) [HCl] x [NaBH₄], (b) [HCl] x Vazão e (c) [HCl] x [NaBH₄] x Vazão, referentes a CVG Cr(VI)



O gráfico de Pareto resultante do planejamento fatorial completo para Cr(VI) está representado na Figura 10.

Figura 10. Gráfico de Pareto em função dos valores da estatística de teste t referente planejamento fatorial completo de CVG de Cr(VI) com NaBH_4



7.2.2. Metodologia de superfície de resposta – planejamento Box-Behnken

Para determinar as condições críticas de CVG das espécies de cromo, foi aplicada metodologia de superfície de resposta Box-Behnken considerando-se todas as variáveis do planejamento fatorial completo de dois níveis, visto que apresentaram efeitos e interações significativos. Nas Tabelas 7 e 8 constam domínios experimentais (valores reais e codificados), os quais foram definidos de acordo com os resultados e interpretações realizadas empregando planejamento fatorial completo, e a resposta analítica foi absorvância em termos de área de pico e tempo de integração de 40 segundos. Foram mantidas as condições fixas dos planejamentos fatoriais completos 2^3 : volume final de solução de 5 mL, o volume de 2 mL de tetraidroborato de sódio introduzido no sistema reacional e razão da chama ar-acetileno de 0,136.

Tabela 7. Planejamento Box-Behnken para fatores significativos na CVG de Cr(III)

Exp.	[NaBH ₄] (%, m/v)	Vazão de NaBH ₄ (mL min ⁻¹)	[HCl] (mol L ⁻¹)	ABS Cr(III)
1	- (0,2)	-1(12)	0 (0,075)	0,03319
2	+ (1,0)	-1(12)	0 (0,075)	0,28041
3	- (0,2)	+ (20)	0 (0,075)	0,01924
4	+ (1,0)	+ (20)	0 (0,075)	0,20749
5	- (0,2)	0 (16)	-1 (0,05)	0,01313
6	+ (1,0)	0 (16)	-1 (0,05)	0,18343
7	- (0,2)	0 (16)	+ 1 (0,1)	0,03819
8	+ (1,0)	0 (16)	+ 1 (0,1)	0,31403
9	0 (0,6)	-1(12)	-1 (0,05)	0,21388
10	0 (0,6)	+ (20)	-1 (0,05)	0,15793
11	0 (0,6)	-1(12)	+ 1 (0,1)	0,12473
12	0 (0,6)	+ (20)	+ 1 (0,1)	0,06220
PC	0 (0,6)	0 (16)	0 (0,075)	0,34801
PC	0 (0,6)	0 (16)	0 (0,075)	0,31774
PC	0 (0,6)	0 (16)	0 (0,075)	0,43171

PC: ponto central

Tabela 8. Planejamento Box-Behnken para fatores significativos na CVG de Cr(VI)

Exp.	[NaBH ₄] (%, m/v)	Vazão de NaBH ₄ (mL min ⁻¹)	[HCl] (mol L ⁻¹)	ABS Cr(VI)
1	- (0,2)	-1(15)	0 (0,075)	0,02739
2	+ (1,0)	-1(15)	0 (0,075)	0,32853
3	- (0,2)	+ (21)	0 (0,075)	0,04209
4	+ (1,0)	+ (21)	0 (0,075)	0,20711
5	- (0,2)	0 (18)	-1 (0,050)	0,03375
6	+ (1,0)	0 (18)	-1 (0,050)	0,20547
7	- (0,2)	0 (18)	+ 1 (0,100)	0,03237
8	+ (1,0)	0 (18)	+ 1 (0,100)	0,17659
9	0 (0,6)	-1(15)	-1 (0,050)	0,25220
10	0 (0,6)	+ (21)	-1 (0,050)	0,18112
11	0 (0,6)	-1(15)	+ 1 (0,100)	0,18488
12	0 (0,6)	+ (21)	+ 1 (0,100)	0,13003
PC	0 (0,6)	0 (18)	0 (0,075)	0,24635
PC	0 (0,6)	0 (18)	0 (0,075)	0,32157
PC	0 (0,6)	0 (18)	0 (0,075)	0,27579

PC: ponto central

Os dados obtidos com a execução da metodologia de resposta Box-Behnken foram tratados no programa Statistica 7.0. Como resultado, um modelo quadrático foi gerado para os dois experimentos referentes a cada espécie de cromo em estudo e as superfícies de resposta geradas a partir dos respectivos modelos apresentaram regiões de máximo de absorvância (Figuras 11 e 12).

Os modelos quadráticos gerados a partir do tratamento dos dados dos planejamentos Box-Behnken foram avaliados por meio da análise de variância (ANOVA) no intuito de verificar estes se adequam e podem ser utilizados para descrever o sistema e os fatores considerados nos experimentos. Nas Tabelas 9 e 10 constam o resultado das análises de variância. O nível de confiança adotado foi de 95%, o que significa que o chamado *p valor* do modelo quadrático deve ser maior que 0,05 (ou 5%) para que não haja falta de ajuste e o mesmo represente satisfatoriamente os dados avaliados. Tanto para a espécie de cromo trivalente e hexavalente, os modelos gerados a partir da metodologia de superfície de resposta

Box-Behnken apresentaram *p* valor maiores que 0,05, sendo de 0,44 para o planejamento para Cr(III) e 0,56 para o de Cr(VI).

Tabela 9. Análise de variância dos dados do planejamento Box-Behnken da espécie Cr(III)

Fator	SQ	GL	MQ	F	P
(1)[NaBH₄] L+Q	0,147366	2	0,073683	21,14175	0,045164
(2)Vazão L+Q	0,053361	2	0,026680	7,65536	0,115535
(3)[HCl] L+Q	0,046433	2	0,023217	6,66149	0,130523
1*2	0,000869	1	0,000869	0,24942	0,667012
1*3	0,002785	1	0,002785	0,79898	0,465722
2*3	0,000011	1	0,000011	0,00312	0,960564
Falta de ajuste	0,014636	3	0,004879	1,39978	0,442488
Erro puro	0,006970	2	0,003485		
Soma quadrática	0,253155	14			

SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática; P: *p*-valor (nível de probabilidade)

Tabela 10. Análise de variância dos dados do planejamento Box-Behnken da espécie Cr(VI)

Fator	SQ	GL	MQ	F	P
(1)[NaBH₄] L+Q	0,115241	2	0,057620	40,10432	0,024328
(2)Vazão L+Q	0,009552	2	0,004776	3,32428	0,231252
(3)[HCl] L+Q	0,019193	2	0,009597	6,67926	0,130221
1*2	0,004632	1	0,004632	3,22403	0,214409
1*3	0,000189	1	0,000189	0,13159	0,751539
2*3	0,000066	1	0,000066	0,04583	0,850321
Falta de ajuste	0,003838	3	0,001279	0,89047	0,567547
Erro puro	0,002874	2	0,001437		
Soma quadrática	0,150104	14			

SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática; P: *p*-valor (nível de probabilidade)

Figura 11. Superfícies de resposta – Cr(III): (a) = (ABS x [HCl] x [NaBH₄]), (b) = (ABS x Vazão x [NaBH₄]), (c) = (ABS x [HCl] x Vazão)

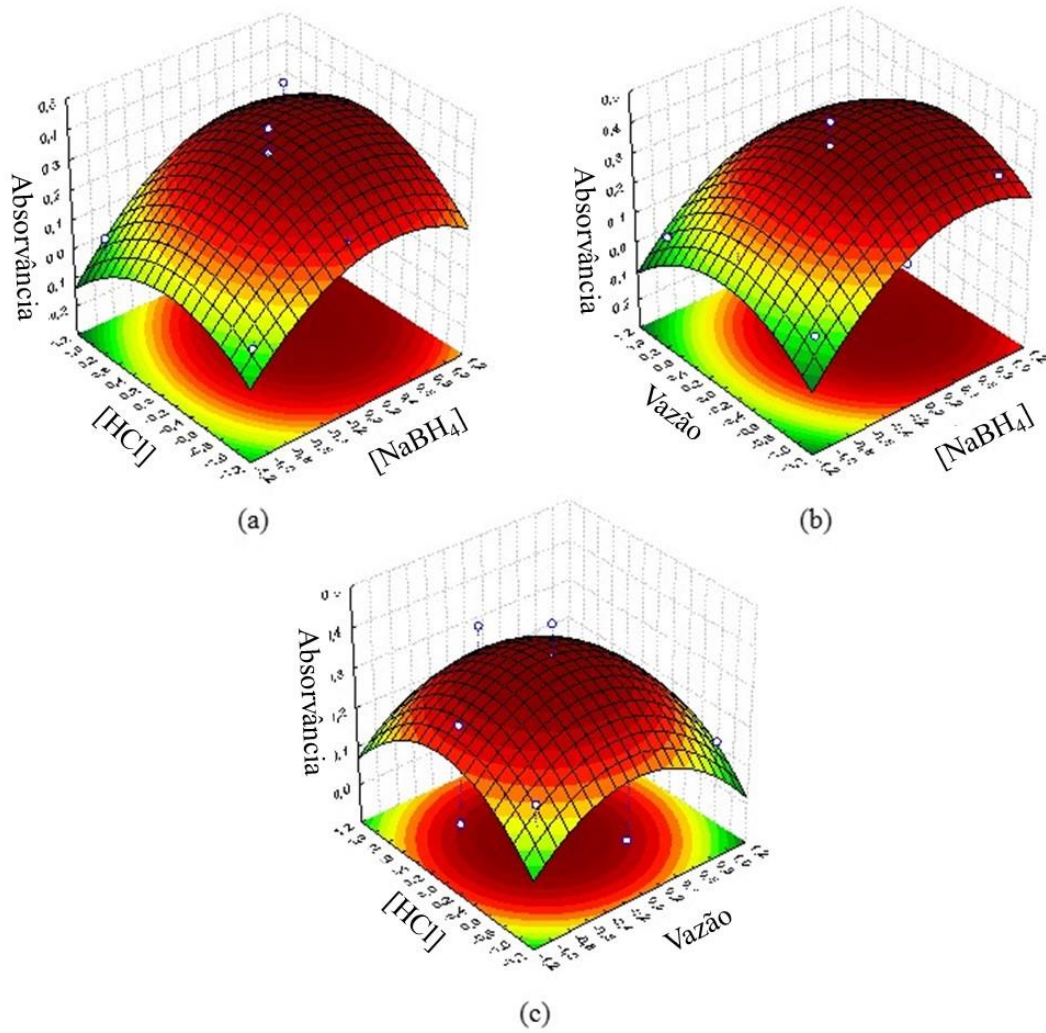
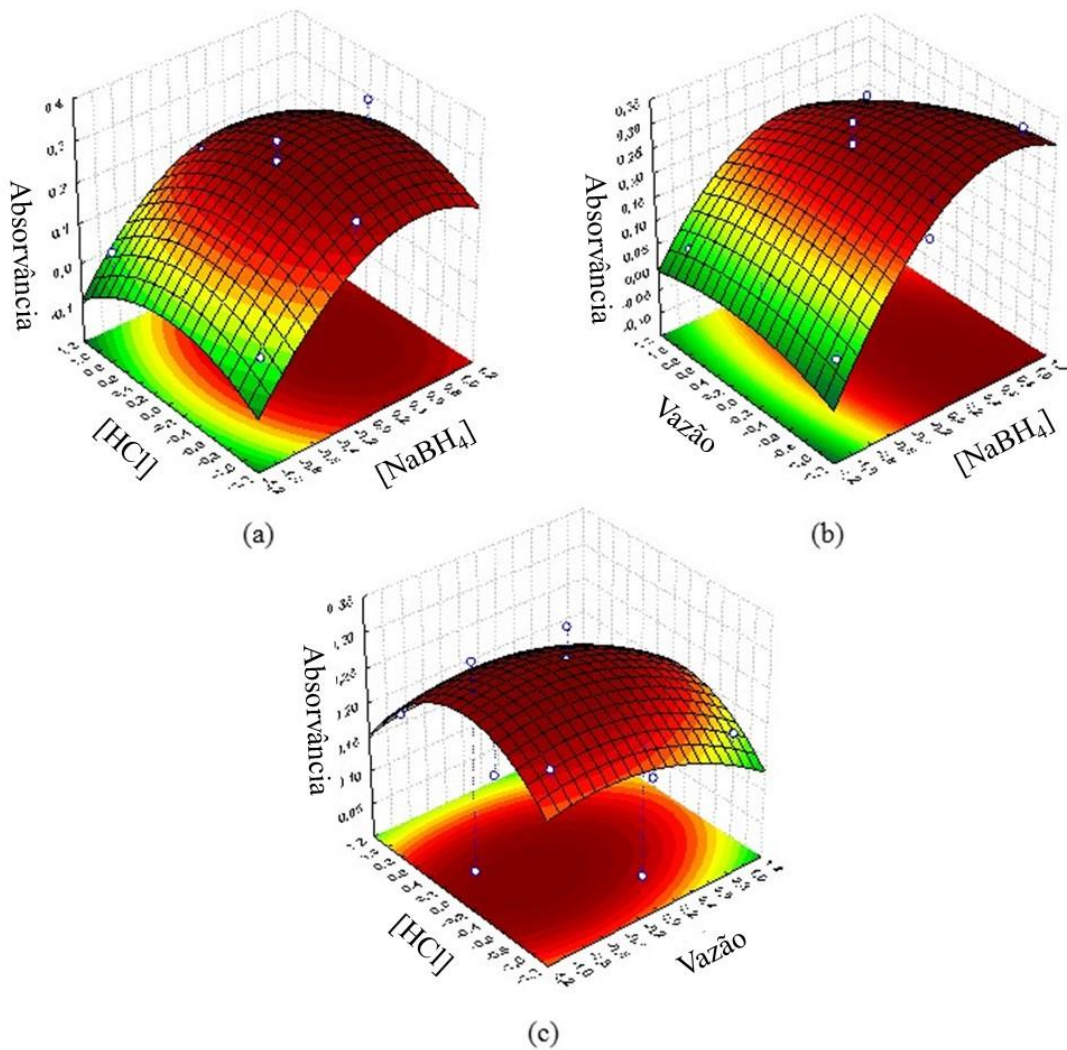


Figura 12. Superfícies de resposta – Cr(VI): (a) = (ABS x [HCl] x [NaBH₄]), (b) = (ABS x Vazão x [NaBH₄]), (c) = (ABS x [HCl] x Vazão)



As condições ótimas estabelecidas para as espécies de cromo (Tabela 11) estão de acordo com o reportado por Welna et al. (2011) com relação às concentrações de tetraidroborato e de ácido clorídrico. Os autores otimizaram a CVG para espécies inorgânicas de cromo utilizando métodos univariados, fluxo contínuo e detecção por ICP OES e encontraram como ótimas concentração de NaBH₄ de 0,25% (m/v) e de HCl de 0,075 mol L⁻¹ para ambas as espécies. Mudanças no entorno destes valores afetaram a resposta analítica com rápida diminuição da mesma. No presente trabalho, a concentração de ácido clorídrico são comparáveis e semelhantes e a concentração de NaBH₄ apresentou valores maiores, porém, dentro do esperado para elementos de transição, cuja máxima resposta analítica é

obtida quando concentração de ácido está entre 0,1 e 2,0 mol L⁻¹ e de borohidreto de sódio entre 0,1 e 1,0% (m/v) (POHL, 2004b).

Tabela 11. Condições ótimas para os fatores investigados na CVG de espécies inorgânicas de cromo determinadas pelo planejamento Box-Behnken (valor codificado entre parêntesis)

Fator	Espécie	
	Cr(III)	Cr(VI)
[NaBH ₄] (% m/v)	0,79 (0,486)	0,85 (0,639)
Vazão de NaBH ₄ (mL min ⁻¹)	15,4 (-0,144)	15,2 (-0,940)
[HCl] (mol L ⁻¹)	0,076 (0,042)	0,070 (-0,200)

Segundo Welz e Schubert-Jacobs (1986) em estudo sobre a influência das concentrações de tetrahidroborato e ácido clorídrico na CVG de arsênio e selênio na presença de interferentes, concluíram que aumento da concentração de ácido clorídrico no meio reacional, assim como redução da concentração de tetrahidroborato, podem favorecer a CVG destes elementos por proporcionar formação de clorocomplexos com os metais (interferentes), reduzindo a concentração de íons livres que possam competir no processo e menor concentração de tetrahidroborato inibe a redução de metais em detrimento dos analitos, o que poderia provocar adsorção dos analitos no colóide resultante da redução dos interferentes.

Transpondo esta informação para o sistema CVG de cromo, foi observado que nas condições ótimas caracterizadas por baixas concentrações de ácido clorídrico e de tetrahidroborato, a turvação, mesmo reduzida com a utilização de menor concentração de NaOH para estabilizar o agente redutor, permaneceu e, de alguma forma, proporcionou melhores respostas analíticas (maior absorvância) em meio aquoso e na ausência de outros elementos na solução. Esta turvação observada na solução pós-reação oriunda da formação de partículas de coloração azulada e aspecto coloidal pode estar relacionada à baixa concentração de HCl otimizada para a CVG de ambas espécies de cromo. O aumento da concentração de HCl seria uma alternativa para criar condição de acidez favorável à maior solubilidade de compostos de cromo que se formem no meio reacional, mas tal medida compromete o desempenho da CVG, visto que maior concentração de HCl no meio reacional reduz a resposta analítica, de acordo com a tendência observada nos planejamentos fatoriais completos para esta variável. Ainda, a existência de um tampão básico reportado na literatura após a reação com o agente redutor, juntamente com o baixo produto de solubilidade de

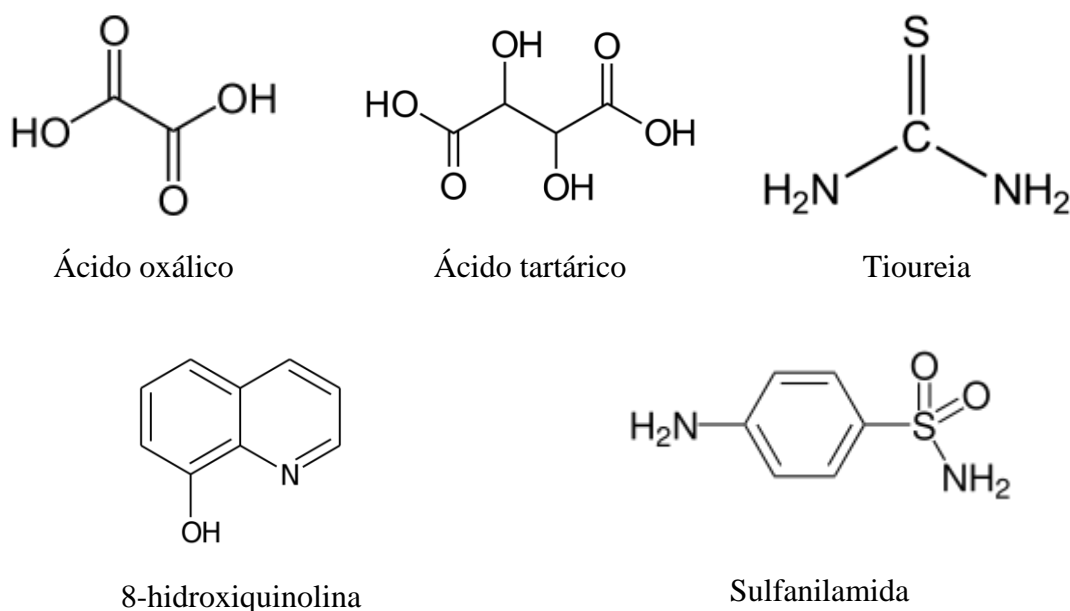
compostos de cromo, como $\text{Cr}(\text{OH})_3$, não favorece a CVG com concentrações menores do analito em relação ao agente redutor, ou seja, sob condições analíticas de reação.

Observando-se, ainda, a formação das partículas de aspecto coloidal mencionadas, tal fato é consistente com as reações de condensação evidenciadas no modelo não-analítico de reação (Figura 2) cujos precursores são complexos hidridometálicos mononucleares ou poliméricos, passam pela formação do intermediário ABC e permanecem na solução após a reação.

7.2.3. Testes com reagentes auxiliares

Após determinadas as condições críticas para geração de vapor químico das espécies de cromo, foi procedido teste com diferentes substâncias no intuito de melhorar o desempenho da CVG. Os reagentes auxiliares foram: ácido oxálico, ácido tartárico, sulfanilamida, 8-hidroxiquinolina, tioureia e cobalto e a estrutura química dos mesmos (exceto para o elemento cobalto) estão representadas na Figura 13.

Figura 13. Estrutura química dos reagentes auxiliares estudados



Os experimentos envolvendo adição de reagentes auxiliares no frasco reacional contendo 10 mg L^{-1} de cromo foram conduzidos separadamente para as duas espécies. Os reagentes foram testados em dois níveis de concentração, 0,2% e 2,0% (m/v), exceto para

sulfanilamida, cujos níveis de concentração foram 0,05% e 0,25% (m/v) e cobalto ($500 \mu\text{g L}^{-1}$).

O cálculo da redução relativa (RR) foi realizado para avaliar o efeito desses reagentes empregando a equação (9):

$$\% RR = \frac{(A_{RA} - A_{PD})}{A_{PD}} \times 100 \quad (9)$$

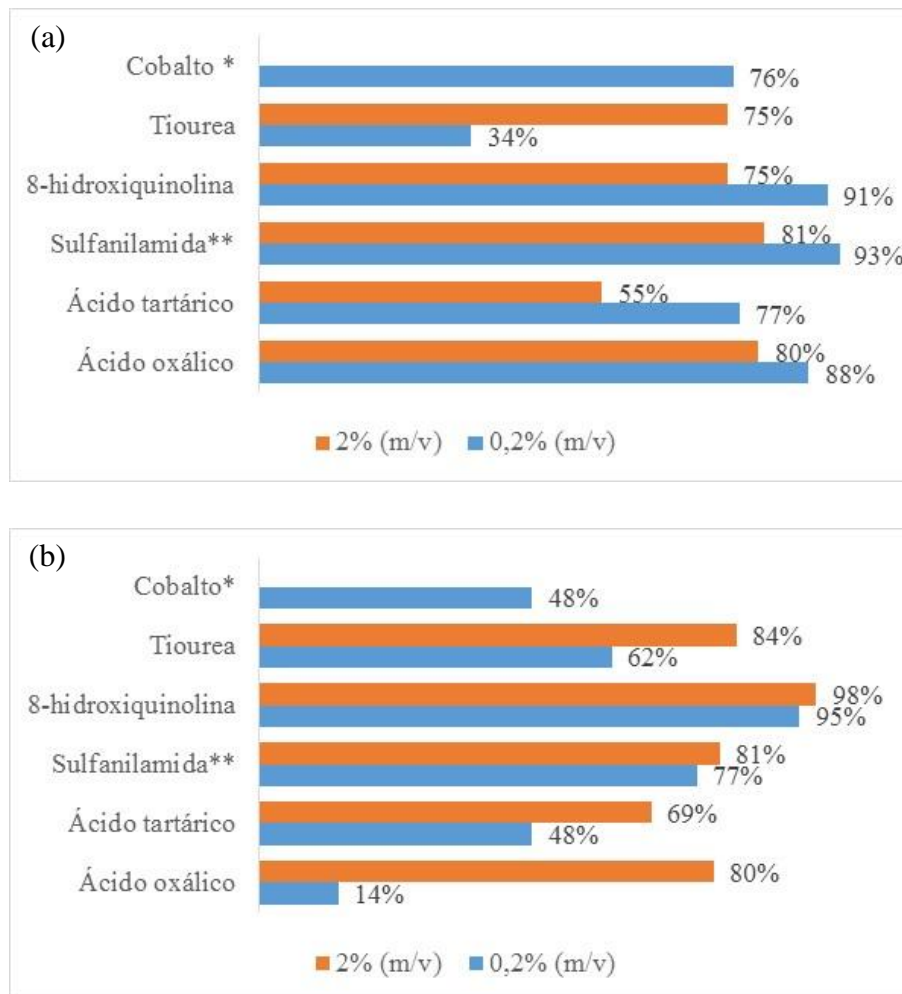
Onde:

A_{RA} = absorvância na presença de reagente auxiliar

A_{PD} = absorvância de solução 10 mg L^{-1} de Cr(III) ou Cr(VI)

Na Figura 14 está representado o resultado referente ao teste. Observa-se que todos os reagentes auxiliares testados causaram supressão do sinal analítico.

Figura 14. Redução relativa da resposta analítica (absorvância) de (a) cromo(III) e (b) cromo(VI) na presença de reagentes auxiliares



(*[Co] = $500 \mu\text{g L}^{-1}$; **[sulfanilamida] = 0,25% (m/v) – laranja; 0,05% (m/v) – azul)

Na literatura científica ainda não foram registrados trabalhos que testem o desempenho da CVG de cromo na presença de reagentes auxiliares, porém, a supressão de sinal analítico quando estes comuns reagentes auxiliares foram testados para aumentar eficiência de geração química de vapor foi registrada por Musil et al. (2009). Os autores avaliaram a CVG de prata na presença de 8-hidroxiquinolina e 1,10-fenantrolina na condição otimizada do sistema com o Triton X100 (surfactante) nas concentrações de 40 a 240 mg L⁻¹ e de 5 a 1000 mg L⁻¹, respectivamente.

Foi também testado o complexante 1,5-difenilcarbazida (1,5-DPC, do inglês *diphenylcarbazide*) (0,01% m/v) na presença da espécie Cr(VI) em concentrações de 1 mg L⁻¹ e 100 mg L⁻¹. As soluções foram acidificadas com ácido sulfúrico de concentrações 0,07 mol L⁻¹ (equivalente à otimizada para HCl para a espécie hexavalente), 0,01 e 1,0 mol L⁻¹. A formação do complexo Cr(VI)-DPC muda a forma como o cromo está presente na solução e foi verificada em todas as situações testadas. No entanto, a supressão da absorvância foi observada, de modo que esta alteração no substrato analítico não proporcionou melhor desempenho da CVG de Cr(VI), apesar de a formação de complexos com o analito ser uma alternativa para aumento da resposta analítica na determinação de elementos de transição, como o uso de APDC na CVG de Co e Ni (ZENG et al., 2012) ou de DDAB na CVG de Au (KRAWCZYK; MATUSIEWICZ, 2013).

7.2.4. Comprimento do tubo de transporte

O efeito do comprimento do tubo de transporte do vapor gerado até a célula de quartzo foi avaliado através da comparação dos sinais analíticos de uma solução 50 mg L⁻¹ de cromo e dos intervalos de confiança. A Tabela 12 sintetiza os dados obtidos.

Tabela 12. Absorvância das espécies de cromo com diferentes comprimentos de tubo condutor

Comprimento do tubo	Intervalos de confiança (95%; n=3)	
	ABS Cr(III)	ABS Cr(VI)
36 cm	0,15258 ± 0,0282	0,258607 ± 0,0377
25 cm	0,12964 ± 0,0100	0,22562 ± 0,04313

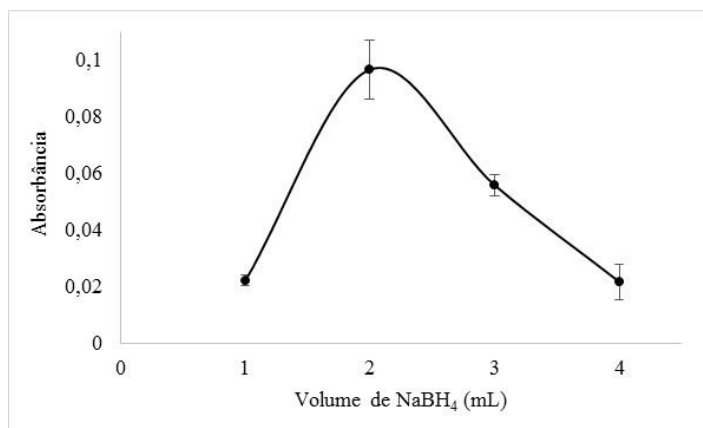
Devido à instabilidade das espécies voláteis geradas pela CVG de metais de transição com tetrahidroborato, o tubo condutor dos produtos até o atomizador deveria ser mantido o

mais curto possível, de modo a evitar perdas do analito resultantes de colisões com a superfície do tubo. No entanto, há relato de que tubos de menor comprimento podem ocasionar maiores variações no sinal analítico (Li, 2006) e, no caso das espécies de cromo, o emprego de tubo de menor comprimento (25 cm) ocasionou redução na absorvância, apesar dos intervalos de confiança apontarem para a não significância deste fator na CVG de cromo.

7.2.5. Volume de tetraidroborato de sódio

Foi realizado experimento univariado para avaliar o melhor de volume de NaBH_4 a ser adicionado no sistema reacional de CVG de cromo. Para tanto, foi selecionada a espécie Cr(VI) para esta avaliação. Utilizou-se solução contendo 10 mg L^{-1} de Cr(VI) e submeteu-se a variação de volume do agente redutor (1, 2, 3 e 4 mL) nas condições ótimas estabelecidas. Na Figura 15 está representada a variação média ($n=2$) do sinal analítico.

Figura 15. Gráfico de volume de NaBH_4 introduzido no sistema reacional x absorvância de Cr(VI)



Considerando que a concentração do agente redutor NaBH_4 é constante (0,85% m/v), ao aumentar o volume do mesmo introduzido no sistema reacional significa aumentar a massa deste reagente no meio e, também, o volume final da solução aumenta.

Uma solução final de maior volume ocasiona em maior barreira física para liberação das espécies voláteis geradas na CVG, resultando em redução da resposta analítica, como representado no gráfico da Figura 16 quando adicionados volumes de 3 e 4 mL de NaBH_4 .

Já o aumento da massa introduzida com maiores volumes adicionados, mantendo-se a concentração de ácido clorídrico, implica em condições em que NaBH_4 pode estar em excesso

no meio reacional. Esta situação remete a uma condição analítica de reação, na qual o agente redutor encontra-se em excesso em relação ao analito e a diminuição da resposta analítica na CVG de Cr(VI) pode evidenciar o fato de que este processo ocorre preferencialmente em condições não-analíticas de reação, cujo mecanismo está representado na Figura 2.

É possível supor que o analito presente em solução tenha reagido com o agente redutor e que, devido à instabilidade da espécie volátil de cromo, a mesma tenha se decomposto no meio reacional antes de vencer a barreira física proporcionada pelo maior volume introduzido.

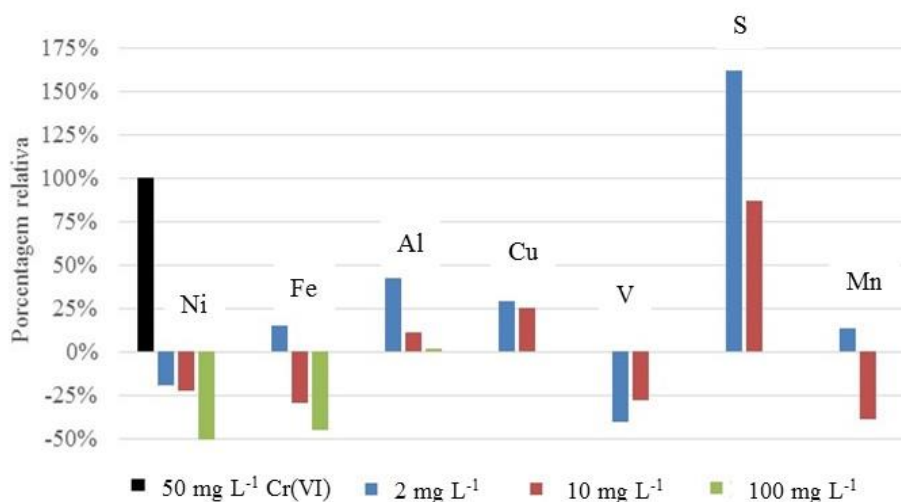
Este aspecto poderia ser melhor compreendido com elucidação da cinética da CVG de cromo e de quais etapas definem a velocidade e ordem da reação, mas este não é um estudo comum para elementos de transição devido à esta instabilidade inerente às espécies voláteis envolvidas no processo.

7.2.6. Interferências

A avaliação de possíveis interferentes no sistema de CVG de cromo foi realizada com a espécie hexavalente, visto que a maioria dos processos de digestão de amostras utilizam como extratores de metais ácidos ou combinação destes caracterizadas por, na maioria das vezes, serem misturas oxidantes. A escolha dos elementos de estudo para possíveis interferentes e os níveis de concentração na solução está baseada na presença destes em matrizes que contém cromo em sua composição em elevada concentração, como ligas metálicas, solos contaminados e cinzas. Nestas matrizes, as concentrações de ferro, níquel, alumínio são em sua maioria altas e são extraídos juntamente com o cromo através de processos de digestão ácida. Outros elementos comumente encontrados são manganês e cobre, sendo este último presente também em ligas metálicas juntamente com vanádio e enxofre.

Os elementos Ni, Fe, Al, Cu, V, S e Mn foram introduzidos como interferentes separadamente, em dois (Cu, V, S e Mn) ou três (Ni, Fe e Al) níveis de concentração (2, 10 e 100 mg L⁻¹), a soluções contendo Cr(VI) a uma concentração de 50 mg L⁻¹, sob as condições ótimas determinadas – concentração de HCl de 0,070 mol L⁻¹, concentração de NaBH₄ de 0,85% (m/v) estabilizada com NaOH 0,05% (m/v) e vazão de NaBH₄ de 15,2 mL min⁻¹. O aumento ou redução da resposta analítica em relação ao de cromo (VI) na ausência do interferente está representada na Figura 16.

Figura 16. Estudo dos interferentes Ni, Fe, Al, Cu, V, S e Mn na CVG de Cr(VI)



A majoração ou supressão da absorvância de cromo foi constatada na presença de todos os interferentes testados. A supressão do sinal analítico ocorreu na presença de níquel nos três níveis de concentração estudados, de ferro para concentrações de 10 e 100 mg L⁻¹, de vanádio para 2 e 10 mg L⁻¹ e de manganês para 10 e 100 mg L⁻¹. Já o aumento relativo foi observado para alumínio, cobre e enxofre nos níveis de 2 e 10 mg L⁻¹ e para manganês a 2 mg L⁻¹.

A condição ótima de CVG para o elemento ferro, de acordo com estudo realizado por Welna et al. (2011), corresponde a uma concentração de HCl igual à determinada pelos autores para cromo: 0,075 mol L⁻¹, valor que é próximo ao determinado neste trabalho para Cr(VI) - 0,070 mol L⁻¹. Infere-se do gráfico que, quanto maior a concentração de ferro no sistema, maior a supressão do sinal analítico referente ao cromo; tal fato pode estar relacionado a interferência do tipo depleção de THB, na qual o interferente reage preferencialmente ao analito. Esta mesma constatação pode ser feita para níquel, cujo comportamento é similar ao ferro, e foi possível observar a formação de partículas sólidas após reação com tetrahidroborato.

Enxofre foi o elemento que provocou aumento relativo na absorvância de cromo (162% a 2 mg L⁻¹ e 87% a 10 mg L⁻¹). Vale ressaltar que o enxofre está presente em muitos dos reagentes auxiliares utilizados com frequência para aumentar eficiência de CVG, como tiourea e sulfanilamida, apesar de estes reagentes terem causado supressão no sinal analítico de cromo.

Alumínio e cobre causaram aumento relativo do sinal analítico, abrangendo entre 2 e 42% para 100 e 2 mg L⁻¹ de Al e entre 25 e 29% para 10 e 2 mg L⁻¹ de Cu. Na presença de

vanádio nos dois níveis estudados, houve supressão do sinal analítico, assim como para manganês a 10 mg L^{-1} .

De acordo com a literatura, variações relativas (para mais ou para menos) superiores a 5% são consideradas interferências e as mesmas devem ser eliminadas no caso de posteriores determinações do analito em matrizes que contenham estes elementos em sua matriz.

A dificuldade inerente à remoção ou mascaramento desses interferentes para a determinação de cromo recai sobre a influência que o sistema sofre, negativamente, quando na presença de reagentes auxiliares ou outras substâncias, como agentes complexantes, visto que aumentam a complexidade do meio reacional.

7.2.7. Parâmetros analíticos

7.2.7.1. Linearidade

A linearidade do método proposto é representada por uma equação, geralmente linear (de primeiro grau), que fornece a relação entre a resposta analítica e a concentração. O ajuste dos dados à curva analítica fornece informações acerca da adequação do modelo matemático, como o coeficiente de correlação (r) e de determinação (r^2).

As curvas analíticas de calibração externa das espécies Cr(III) e Cr(VI) foram realizadas com padrões aquosos de concentrações variando entre 0 e 100 mg L^{-1} . A linearidade para ambas espécies, ou seja, a faixa que compreende a relação linear entre concentração e absorvância, foi observada de 0 a 70 mg L^{-1} . Na Tabela 13 estão expostos dados característicos das curvas analíticas.

Tabela 13. Dados des curvas analíticas

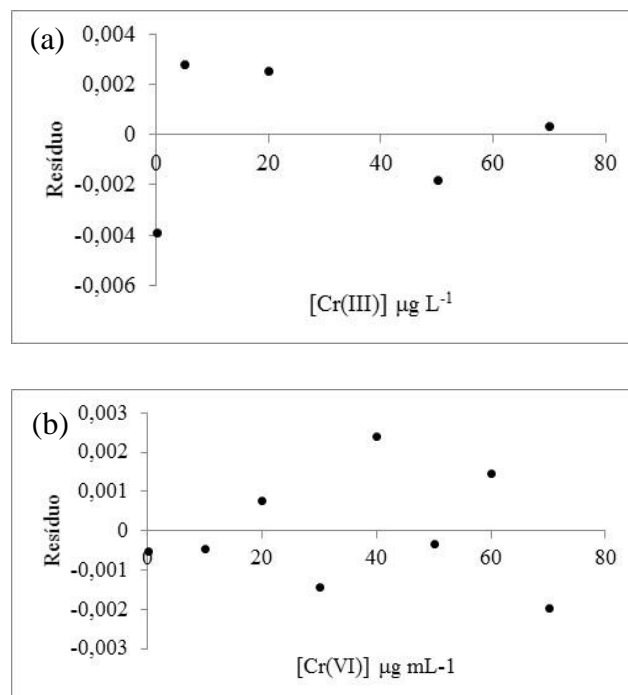
Espécie	Equação ($y = \alpha \cdot x + b$)	r	r^2
Cr(III)	$y = (0,0042 \pm 0,0001) x + (0,0298 \pm 0,0022)$	0,9997	0,9995
Cr(VI)	$y = (0,0020 \pm 0,00002) x + (0,0642 \pm 0,0010)$	0,9995	0,9991

Pelos valores dos coeficientes de correlação, r , observa-se que há correlação positiva entre os dados ($r > 0$), os quais são bem ajustados por um modelo linear, já que quanto mais

próximo da unidade, melhor o ajuste matemático da função à curva analítica e mais forte é a correlação. Em termos de coeficiente de determinação, r^2 , constata-se que mais de 99,9% da variação na determinação de ambas espécies de cromo é explicada pelo modelo.

A avaliação dos gráficos de resíduos como uma forma complementar de constatação de problemas do modelo faz-se, também, importante. Dispersões residuais as quais não caracterizam uma padrão na distribuição dos mesmos indicam homocedastidade (variância constante) nos erros associados às determinações. Problemas no ajuste da curva são identificados na distribuição destes erros, que podem apresentar desvios de linearidade, amostras atípicas, heterocedastidade (variâncias constantes, aumento ou diminuição do desvio-padrão quando aumenta concentração do analito) ou erros que se correlacionem (MILLER; MILLER, 2010; MORANO et al., 2008). Na Figura 17 estão representados os gráficos dos resíduos.

Figura 17. Gráficos dos resíduos do sinal analítico (absorvância) nas determinações de (a) Cr(III) e (b) Cr(VI)



A distribuição dos resíduos observada nos gráficos é compatível com a classificação de resíduos adequados, não mostram desvios de linearidade, amostras atípicas, heterocedastidade (variância não constante) ou correlação entre erros. O modelo linear, então, é adequado para representar a curva de calibração do método para ambas as espécies de cromo.

7.2.7.2. Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram calculados com base na definição da IUPAC, sendo o LOD dado por $3\sigma/\alpha$, enquanto que o LOQ é dado por $10\sigma/\alpha$, onde σ é o desvio padrão de 10 medidas de branco e α é a inclinação da curva de calibração.

Os valores de LOD foram $1,7 \text{ mg L}^{-1}$ e $5,8 \text{ mg L}^{-1}$ para Cr(III) e Cr(VI), respectivamente, e os valores de LOQ foram de $5,8 \text{ mg L}^{-1}$ e $19,5 \text{ mg L}^{-1}$ para Cr(III) e Cr(VI), respectivamente.

A comparação das equações evidencia que a sensibilidade, representada pelo coeficiente angular das curvas de calibração, na determinação de Cr(III) é 2,1 vezes maior que na determinação de Cr(VI), apesar de os efeitos observados para cada variável e suas interações nos planejamentos fatoriais terem sido similares entre as espécies. O uso de codificação nas metodologias multivariadas de triagem permite que a influência das variáveis sejam comparadas sem que a grandeza das mesmas interfiram na interpretação. Assim, evidenciou-se com a construção das curvas de calibração que há, de fato, diferença de sensibilidade em se tratando da CVG das espécies de cromo.

Considerando-se que a CVG da espécie de cromo trivalente apresentou menores limites de detecção e quantificação que a de cromo hexavalente, foi testado o uso de agentes redutores ácido ascórbico e hidroxilamina para proporcionar redução total de Cr(VI) para Cr(III) e poder ser feita a determinação de cromo total no sistema reacional. No entanto, os dois agentes redutores mencionados não favoreceram melhoras nos parâmetros analíticos da CVG de cromo, aumentando o limite de detecção para cromo trivalente.

Os limites obtidos neste trabalho são somente comparáveis ao sistema estudado por Welna et al. (2011), com introdução dos reagentes e soluções padrão a fluxo contínuo, que determinou limite de detecção de $0,066 \text{ mg L}^{-1}$ para Cr(III) e $0,174 \text{ mg L}^{-1}$ para Cr(VI), e por Peña-Vázquez et al. (2007), que registrou limite de detecção de $0,265 \text{ mg L}^{-1}$ para cromo. Ainda assim, os valores de LOD registrados no presente estudo são cerca de 25 a 33% maiores que os determinados por Welna et al. (2011) para Cr(III) e Cr(VI), respectivamente. No sistema em batelada empregado neste trabalho e utilizando célula de quartzo aquecida externamente como atomizador, estes parâmetros não mostraram-se melhores. É possível que, quando o reagente tetraidroborato e a solução contendo o analito cromo entram em contato por meio de fluxo contínuo ou injeção em fluxo, a interação entre os mesmos seja mais

efetiva, assim como o transporte ao sistema de atomização e detecção, provendo melhor eficiência de CVG e, conseqüentemente, melhores limites de detecção e quantificação.

Os sistemas adotados pelos autores mencionados utilizaram a técnica ICP OES como detecção, fator que também pode contribuir positivamente para a CVG de cromo, visto que o uso de um tubo de quartzo para manter as espécies voláteis no caminho óptico pode não ser favorável no caso do cromo devido à maior instabilidade das espécies formadas e daí venha a necessidade de aumento da concentração do analito no meio para que sejam geradas mais espécies voláteis que alcancem e permaneçam no caminho óptico pelo tempo ajustado para determinação por atenuação da radiação incidente. Vale salientar que nos dois trabalhos científicos mencionados, a eficiência de CVG de cromo baixa, sendo de 0,23% no sistema proposto por Welna et al. (2011) e de 0,01% naquele de Peña-Vázquez et al. (2007).

Os desvios das medidas dos brancos analíticos também são diretamente relacionáveis com os limites calculados – apesar do uso de célula de quartzo aquecida externamente como sistema de atomização diminuir ou até extinguir possíveis interferências espectrais causadas pelo direto da chama ar/acetileno, imperfeições no material utilizado ou seu desgaste contínuo devido ao contato com chama de temperaturas variáveis, pode causar variações de sinal.

7.2.7.3. Faixa linear de trabalho

A faixa linear de trabalho é limitada pelo limite de quantificação e o máximo observado de concentração até a perda da linearidade da curva analítica. Assim, Cr(III) tem faixa de trabalho entre 5,8 e 70 mg L⁻¹ e Cr(VI) entre 19,5 e 70 mg L⁻¹.

7.2.7.4. Precisão

A precisão foi dada pelo coeficiente de variação, CV, de três medidas de soluções de cromo (III) e cromo (VI), de concentração 50 mg L⁻¹. O CV é calculado como sendo a razão entre o desvio padrão e a média das medidas (absorvância).

A precisão calculada para cromo (III) foi de 7% e para cromo (VI), de 6%, e são considerados aceitáveis, já que são menores que 10%. Estes resultados estão de acordo com dados de precisão estabelecidos para CVG de diversos metais de transição, os quais tendem a ser mais altos, como reportado por Peña-Vázquez et al. (2007) – coeficiente de variação de

25% para solução padrão de cromo de concentração $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ em sistema de fluxo contínuo e determinação por ICP OES. Welna et al. (2011) reportaram precisão de 5,6% para Cr(III) e de 8,6% para Cr (VI) calculados para soluções padrão das respectivas espécies de concentração 5 mg L^{-1} .

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A geração química de vapor com o emprego de tetrahidroborato de sódio ganhou notoriedade e relevância desde os anos 1970 como uma técnica promissora de introdução de amostras, derivatizando o analito em espécies voláteis, cuja complexidade e identificação ainda permanecem sem resposta para muitos elementos diferentes dos clássicos formadores de hidretos.

A inclusão de metais de transição no escopo de elementos que reagem com tetrahidroborato de sódio em meio ácido originando espécies voláteis tem aumentado constantemente. Desde o primeiro estudo desenvolvido em 1996 por Sturgeon e colaboradores, foi possível desenvolver, reescrever e adaptar teorias mecanísticas para melhor compreensão do sistema e das variáveis que influenciam a reação, de modo a facilitar e permitir a intervenção no processo e promover o suprimento de informações no âmbito acadêmico acerca de aspectos ainda desconhecidos da CVG e novos elementos.

Neste trabalho, foram explorados recursos quimiométricos – planejamento fatorial completo e metodologia de resposta Box-Behnken –, experimentos univariados e o acoplamento com espectrometria de absorção atômica com fonte contínua de alta resolução (HR-CS AAS) na avaliação de variáveis que poderiam influenciar na CVG de cromo, um elemento de transição com, ainda, poucos trabalhos acadêmicos dedicados a aspectos práticos da reação.

A concentração de hidróxido de sódio para estabilização do agente redutor foi um fator inicialmente importante a ser avaliado, visto que cromo precipita na forma de hidróxido de cromo(III) em faixas básicas de pH e a reação de geração química de vapor com tetrahidroborato já estabelece, por meio da decomposição deste reagente, um tampão borato de pH em torno de 9. Dos planejamentos fatoriais completos foi possível inferir que as variáveis concentração de ácido clorídrico e concentração de tetrahidroborato são, de fato, fatores que influenciam a CVG de cromo, assim como a de outros elementos de transição. A interação existente entre essas duas variáveis, de efeito positivo para ambas as espécies, indica a atuação sinérgica destas variáveis; a vazão do agente redutor no sistema em batelada também foi significativa nos dois casos.

A aplicação da metodologia de resposta Box-Behnken possibilitou a determinação de condições ótimas de reação para ambas espécies de cromo (trivalente e hexavente), as quais foram similares – concentração de HCl de 0,076 e 0,070 mol L⁻¹; concentração de NaBH₄ de

0,79% e 0,85% (m/v) e vazão de NaBH_4 de 15,2 e 15,4 mL min^{-1} para Cr (III) e Cr(VI), respectivamente. De modo similar às condições de CVG de outros metais de transição, como Ni, Co, Fe e Mn, a CVG de cromo apresenta maiores respostas analíticas (absorvância) quando as concentrações dos reagentes mencionados são baixas.

O comprimento do tubo de transporte do vapor químico à célula de quartzo foi avaliado para ambas espécies de cromo e constatou-se que, apesar de não apresentar diferença estatisticamente significativa, a resposta analítica foi maior quando o tubo de maior comprimento foi utilizado, sendo o tamanho de 36 cm adotado em todos os experimentos. Foi avaliado também o volume de tetrahidroborato adicionado, sendo 2 mL estabelecido como ótimo.

O desempenho da CVG de cromo na presença dos reagentes auxiliares cobalto, sulfanilamida, ácido tartárico, tiourea e 8-hidroxiquinolina não foi satisfatório, havendo supressão da resposta analítica em todas as situações testadas.

Os objetivos do trabalho foram atingidos na medida em que foi estabelecida condição ótima de geração química de vapor de espécies inorgânicas de cromo, Cr(III) e Cr(VI), utilizando o sistema proposto em batelada e acoplado a equipamento de HR-CS AAS. Os limites de detecção e quantificação determinados para o método, na ordem de mg L^{-1} , a precisão entre 6 e 7% e a confirmação de que o número de oxidação menor favorece a CVG estão de acordo com o reportado na literatura no que tange a geração química de vapor de metais de transição.

Devido ao elevado limite de quantificação do método associada à baixa eficiência de CVG e de várias interferências, não foi possível até o presente momento a aplicação em amostras. De posse dos estudos realizados neste trabalho e das informações acerca do sistema CVG de cromo, futuros estudos podem ser guiados na busca por fatores que aumentem a eficiência de geração e de procedimentos eficazes na separação de interferentes.

Os resultados aqui obtidos mostram que ainda são necessários estudos mais elaborados e aprofundados, com outros acoplamentos e ajustes para avaliar aspectos referentes ao mecanismo de CVG e de interferências envolvidos no caso do elemento cromo para proporcionar aplicação em amostras a nível aceitável diante das técnicas que já são utilizadas para determinação de cromo e suas espécies, levando em consideração a importância dada a aspectos ecotoxicológicos e essenciais deste elemento nas vidas humana, de animais e de plantas e nos compartimentos ambientais.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13738**: Água – Determinação de cromo hexavalente – Método colorimétrico da difenilcarbazida, 1996.
- ANKE, M.; IHNAT, M.; STOEPLER, M. **Elements and Their Compounds in the Environment**. 2. ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2004. v. 11
- ATKINS, P. et al. **Química Inorgânica**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.
- BARNETT, N. W. et al. **Basic Chemometric Techniques in Atomic Spectroscopy**. 2. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2013.
- BAX, D. et al. The mechanism of transition metal interference in hydride generation atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 43, n. 9–11, p. 1349–1354, 1988.
- BERMEJO-BARRERA, P. et al. Chromium speciation by ETAAS using 1,1,1-trifluoro-2,4-pentadione to form a volatile chelate with Cr(III). **Atomic spectroscopy**, v. 24, n. 1, p. 22–26, 2003.
- BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965–977, 15 set. 2008.
- BIELICKA, A.; BOJANOWSKA, I.; WIŚNIEWSKI, A. Two faces of chromium - Pollutant and bioelement. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 14, n. 1, p. 5–10, 2005.
- 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.
- CALVO FORNIELES, A. et al. Simultaneous determination of traces of Pt, Pd, and Ir by SPE-ICP-OES. Test for chemical vapor generation. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 82–89, 2016.
- CERUTTI, S. et al. On-line preconcentration and vapor generation of scandium prior to ICP-OES detection. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 26, n. 12, p. 2428–2433, 2011.
- D'ULIVO, A. et al. Mechanisms involved in chemical vapor generation by aqueous tetrahydroborate(III) derivatization. Role of hexacyanoferrate(III) in plumbane generation. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 63, n. 8, p. 835–842, 2008.
- D'ULIVO, A. Mechanism of generation of volatile species by aqueous boranes: Towards the clarification of most controversial aspects. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 65, n. 5, p. 360–375, 2010.
- D'ULIVO, A. et al. Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 83, n. 6, p. 67–68, 16 jan. 2011.
- D'ULIVO, A. Mechanisms of chemical vapor generation by aqueous tetrahydridoborate. Recent developments toward the definition of a more general reaction model. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 119, p. 91–107, 2016.

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 Atomic Spectroscopy**, v. 60, n. 4, p. 423–438, 2005.

DEDINA, J. Interference of volatile hydride-forming elements in selenium determination by atomic absorption spectrometry with hydride generation. **Analytical Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 2097–2102, out. 1982.

DEDINA, J. Atomization of volatile compounds for atomic absorption and atomic fluorescence spectrometry: On the way towards the ideal atomizer. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 9, p. 846–872, 2007.

DEDINA, J.; TSALEV, D. L. **Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry**. Inglaterra: John Wiley e Sons, 1995.

DERRINGER, G. C.; SUICH, R. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, p. 214–219, 1980.

DHAL, B. et al. Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 250–251, p. 272–291, 2013.

DUAN, X. et al. 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. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, n. 3, p. 227–231, 2002.

FENG, Y. L. et al. Insights into the mechanism of chemical vapor generation of transition and noble metals. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 20, n. 4, p. 255, 2005.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: Conceitos, Métodos e Aplicações**. 1. ed. Campinas, São Paulo: Editora Unicamp, 2015a.

FERREIRA, S. L. C. et al. Box-Behnken design : An alternative for the optimization of analytical methods. v. 597, p. 179–186, 2007.

FERREIRA, S. L. C. **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**. 1. ed. Salvador: Vento Leste, 2015b.

GUO, X. et al. Preliminary study on a vapor generation technique for nickel without using carbon monoxide by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, n. September 1999, p. 943–950, 2000.

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

KRAWCZYK, M.; MATUSIEWICZ, H. Determination of gold by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry with chemical vapor generation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 5, p. 749–757, 2013.

KUMAR, A. R.; RIYAZUDDIN, P. Chemical interferences in hydride-generation atomic spectrometry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 2, p. 166–176, 2010.

- LI, Z. Studies on the determination of trace amounts of gold by chemical vapour generation non-dispersive atomic fluorescence spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 21, n. 4, p. 435, 2006.
- LIN, M.-Y.; WHANG, C.-W. Microwave-assisted derivatization and single-drop microextraction for gas chromatographic determination of chromium(III) in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1160, n. 1–2, p. 336–339, ago. 2007.
- LUNA, A.; STURGEON, R.; DE CAMPOS RC. 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. 3523–31, 2000.
- MARRERO, J.; SMICHOWSKI, P. Evaluation of vapor generation for the determination of nickel by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 374, n. 2, p. 196–202, 2002.
- MILLER, J. M.; MILLER, J. C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. 6. ed. London: Pearson, 2010.
- MOORE, D. S.; ROBINSON, S. D. Hydrido complexes of the transition metals. **Chemical Society Reviews**, v. 12, n. 4, p. 415, 1983.
- MORANO, S. C. et al. PLANILHA DE VALIDAÇÃO: UMA NOVA FERRAMENTA PARA ESTIMAR FIGURAS DE MÉRITO NA VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS UNIVARIADOS Fabiana Alves de Lima Ribeiro e Márcia Miguel Castro Ferreira*. v. 31, n. 1, p. 164–171, 2008.
- MUSIL, S. et al. Chemical vapor generation of silver for atomic absorption spectrometry with the multiatomizer: Radiotracer efficiency study and characterization of silver species. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 64, n. 11–12, p. 1240–1247, 2009.
- NIČ, M. et al. (EDS.). transition element. In: **IUPAC Compendium of Chemical Terminology**. 2. ed. Research Triangle Park, NC: IUPAC, 2009. p. 43.
- PENA-VAZQUEZ, 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.
- PEREIRA FILHO, E. R. **Planejamento fatorial em química: maximizando a obtenção de resultados**. 1. ed. São Carlos: EDUFSCar, 2015.
- POHL, P. Hydride generation - Recent advances in atomic emission spectrometry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 2, p. 87–101, 2004a.
- POHL, P. Recent advances in chemical vapour generation via reaction with sodium tetrahydroborate. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 21–27, 2004b.
- POHL, P. et al. Chemical-vapor generation of transition metals through the reaction with tetrahydroborate in recent achievements in analytical atomic spectrometry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 59, p. 144–155, 2014.
- POHL, P.; PRUSISZ, B. Chemical vapor generation of noble metals for analytical spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 388, n. 4, p. 753–762, 2007.

POHL, P.; ZYRNICKI, W. On the transport of some metals into inductively coupled plasma during hydride generation process. **Analytica Chimica Acta**, v. 429, n. 1, p. 135–143, 2001.

RAMESH KUMAR, A.; RIYAZUDDIN, P. Non-chromatographic hydride generation atomic spectrometric techniques for the speciation analysis of arsenic, antimony, selenium, and tellurium in water samples—a review. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 87, n. 7, p. 469–500, 2007.

SHANKER, A. K. et al. Chromium toxicity in plants. **Environment International**, v. 31, n. 5, p. 739–753, 2005.

SILVA, L. O. B. et al. Determination of copper in airborne particulate matter using slurry sampling and chemical vapor generation atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 127, p. 140–145, 2014.

SMICHOWSKI, P.; FARÍAS, S. Advantages and analytical applications of chloride generation. A review on vapor generation methods in atomic spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 67, n. 1–3, p. 147–155, 2000.

SMICHOWSKI, P.; FARÍAS, S.; PÉREZ ARISNABARRETA, S. Chemical vapour generation of transition metal volatile species for analytical purposes: Determination of Zn by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. **The Analyst**, v. 128, n. 6, p. 779, 2003.

STURGEON, R. E. et al. Determination of copper in environmental matrices following vapor generation. **Analytical chemistry**, v. 68, n. 11, p. 1883–1887, 1996.

STURGEON, R. E.; GUO, X.; MESTER, Z. Chemical vapor generation: Are further advances yet possible? **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, n. 4, p. 881–883, 2005.

STURGEON, R. E.; MESTER, Z. Analytical Applications of Volatile Metal Derivatives. **Applied Spectroscopy**, v. 56, n. 8, p. 202–213, 1 ago. 2002.

TAKASE, I. et al. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1132–1144, 2002.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338–350, abr. 2006.

VAN DE WATERBEEMD, H. et al. **Glossary of terms used in computational drug design (IUPAC Recommendations 1997)**. [s.l.: s.n.]. v. 69

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: Atomic Spectroscopy**, v. 64, n. 7, p. 659–665, jul. 2009.

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.

WELZ, B. et al. High-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry - What can we expect? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 220–229, 2003.

WELZ, B.; SCHUBERT-JACOBS, M. Mechanisms of transition metal interferences in hydride generation atomic absorption spectrometry. Part 4. Influence of acid and tetrahydroborate concentrations on interferences in arsenic and selenium determinations. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 1, n. 1, p. 23, 1986.

WICKSTRØM, T.; LUND, W.; BYE, R. Transport of nickel, cobalt, iron and chromium to the atom cell during a hydride generation process. **The Analyst**, v. 121, n. 2, p. 201–204, 1996.

WU, Y. et al. In-situ separation of chromium(III) and chromium(VI) and sequential ETV-ICP-AES determination using acetylacetone and PTFE as chemical modifiers. **Fresenius' journal of analytical chemistry**, v. 370, n. 7, p. 904–8, ago. 2001.

ZENG, C. et al. Ultrasensitive determination of cobalt and nickel by atomic fluorescence spectrometry using APDC enhanced chemical vapor generation. **Microchemical Journal**, v. 104, p. 33–37, set. 2012.

ZHU, X. et al. Speciation of chromium(III) and chromium(VI) by in situ separation and sequential determination with electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 471, n. 1, p. 121–126, out. 2002.