



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

FABIANA GERONDI

**AMPLIAÇÃO DO USO DA TÉCNICA DE ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA UTILIZANDO TUBO METÁLICO NA CHAMA
PARA DETERMINAÇÃO DE PRATA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA AO
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM QUÍMICA
NA ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA.**

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCO AURÉLIO ZEZZI ARRUDA

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA
POR FABIANA GERONDI, E ORIENTADA PELO PROF. DR. MARCO AURÉLIO ZEZZI ARRUDA.**

Assinatura do Orientador

CAMPINAS, 2012

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

G319a Gerondi, Fabiana (1986-).
Ampliação do uso da técnica de espectrometria de absorção atômica utilizando tubo metálico na chama para determinação de prata / Fabiana Gerondi. – Campinas, SP: [s.n.], 2012.

Orientador: Marco Aurélio Zezzi Arruda.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. TS-FF-AAS. 2. Prata. 3. Amostras ambientais.
II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Enlarging the use of thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry for determination of silver

Palavras-chave em inglês:

TS-FF-AAS

Silver

Environmental samples

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Analítica

Banca examinadora:

Marco Aurélio Zezzi Arruda [Orientador]

Clésia Cristina Nascentes

Susanne Rath

Data de defesa: 09/03/2012

Programa de pós-graduação: Química

*“Quando a gente acha que tem todas as respostas,
Vem a vida e muda todas as perguntas...”*

(Luís Fernando Veríssimo)

*“É impossível haver progresso sem mudança e, quem não consegue mudar a si mesmo, não
muda coisa alguma.”*

(George Bernard Shaw)

Agradecimentos

Antes e acima de tudo, agradeço a Deus por cuidar de mim e de todas as pessoas ao meu redor e permitir o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço aos meus pais e minha irmã pelo apoio, carinho e dedicação.

Agradeço à Universidade Estadual de Campinas e ao Instituto de Química por toda a infraestrutura necessária ao desenvolvimento deste estudo.

Agradeço também ao Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda pela confiança, dedicação e aprendizado, e aos amigos do grupo GEPAM (Alessandra, Bruna, Caio, Cícero, Daiane, Elidiane, Eraldo, Gustavo, Heloísa, Herbert, Ivanilce, José, Juan, Javier, Kelly, Lícia, Lidianne, Marcelo, Odilon, Rodrigo, Sarah, Silvana e Profa. Anne-Hélène) pela amizade, convivência, momentos de distração e grande ajuda durante a execução deste trabalho.

Agradeço a Daniely Soares pela ajuda na etapa final deste trabalho.

E aos meus amigos Vanessa, Márcia, Valeska, Alek, Elton, Fábio Henrique e Raphael que estiveram presentes durante esta etapa da minha vida.

Agradeço também aos funcionários do Instituto de Química da Unicamp, que me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho, em especial ao Mário, da mecânica fina, aos funcionários da Biblioteca e aos funcionários da CPG.

A todos que de alguma maneira colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho, meu agradecimento sincero.

Curriculum Vitae

Fabiana Gerondi

Brasileira, natural de Campinas – SP.

Formação Acadêmica

Graduação em Química (Licenciatura e Bacharelado com Atribuições Tecnológicas)

Universidade Estadual de Campinas

Conclusão: Dezembro/2009

Ensino Técnico em Química

Escola Técnica Estadual Conselheiro Antônio Prado

Conclusão: Julho/2003

Participação em Congressos

Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXVII

28 de agosto a 3 de setembro de 2011

Búzios – RJ

2º EspeQBrasil – Encontro Brasileiro sobre Especificação Química

12 a 15 de Dezembro de 2010

São Pedro – SP

Atuação Profissional

Universidade Estadual de Campinas - Programa de Estágio Docente

Estagiária em disciplina do curso de graduação em Química

Período: Primeiro Semestre de 2011

Multi Vegetal Indústria e Comércio de Cosméticos e Produtos Naturais Ltda. – Me

Estagiária

Atividades: Estudos com combinações de surfactantes e formulações de bases cosméticas com enxágüe. Análises físico-químicas de cosméticos.

Cooperativa do Saber Cursos Preparatórios e Sistema Cultural de Ensino

Plantonista e Professora de curso pré-vestibular

Período: março a dezembro/2009

Atividades: Apoio didático aos alunos e aulas de química para o vestibular.

Universidade Estadual de Campinas - Programa de Apoio Didático

Auxiliar Didático nas Disciplinas de Química Geral

Período: março a julho/2009

Atividades: Auxílio ao professor e aluno durante as aulas práticas de química geral

Instituto Agrônomo de Campinas

Estagiária Nível Técnico

Período: junho/2004 a fevereiro/2005

Atividades: Análises de solo

Curso Complementar

Bioinorganic speciation analysis and metallomics

Palestrante: Dirk Schaumlöffel

Carga Horária: 6

Realizado em 26 de agosto de 2011 - Unicamp

Resumo

Ampliação do uso da técnica de espectrometria de absorção atômica utilizando tubo metálico na chama para determinação de prata

A técnica espectrometria de absorção atômica utilizando tubo metálico na chama e spray térmico (TS-FF-AAS, do inglês, *thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*) consiste no uso de um tubo metálico sobre a chama do queimador do espectrômetro de absorção atômica, no qual a amostra é introduzida por meio de um capilar cerâmico. No desenvolvimento desse método, as variáveis envolvidas foram estudadas e as condições ótimas consistem no uso de ar a $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ como carregador, $200 \text{ }\mu\text{L}$ de solução de amostra (em meio ácido) que são injetados no interior de um tubo de Ni sem furos na parte inferior, localizado em uma chama oxidante na proporção de $1,5 \text{ L min}^{-1}$ de acetileno: 12 L min^{-1} de ar. Nessas condições, as menores quantidades que podem ser detectada e quantificada são de $0,15$ e $0,50 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os valores da concentração de prata em materiais certificados de água (SRM 1643e, Trace Elements in water) e peixe (MA-A-2, Fish Flesh Homogenate) determinados são $1,097 \pm 0,062 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ e $0,094 \pm 0,020 \text{ }\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente, que correspondem a 103 e 94% da quantidade presente no material. Assim, este trabalho propõe uma alternativa para a determinação de prata, na qual não são utilizadas etapas de preconcentração do analito, que são necessárias quando a espectrometria de absorção atômica por chama é utilizada, simplificando o procedimento experimental e diminuindo o tempo de análise e as fontes de erros.

Abstract

Enlarging the use of thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry technique for silver determination

Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) uses a metallic tube on the flame of the atomic absorption spectrometer. The sample is introduced in the tube by a ceramic capillary. In the development of this method, the parameters involved were studied and the optimal conditions consist of using air as carrier at 0.4 mL min^{-1} , $200 \text{ }\mu\text{L}$ of sample (in acid medium) which are injected in a nickel tube without holes in the bottom part and it is located in a oxidant flame with 1.5 L min^{-1} acetylene: 12 L min^{-1} air. Under these conditions, the limits of detection and quantification are 0.15 and $0.50 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The values of silver concentration in certified reference materials of water (SRM 1643e, Trace Elements in Water) and fish (MA-A-2, Fish Flesh Homogenate) are $1.097 \pm 0.062 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ and $0.094 \pm 0.020 \text{ }\mu\text{g g}^{-1}$, respectively, which correspond to 103 and 94% of the certified value. So, this work proposes a simpler and less time consuming alternative to determine silver in environmental samples that do not use preconcentration steps, frequently used when flame atomic absorption spectrometry is used.

Índice

Lista de abreviaturas e acrônimos	xii
Lista de tabelas.....	xiii
Lista de figuras.....	xv
Introdução	1
Revisão bibliográfica.....	3
1. Espectrometria de absorção atômica com tubo metálico na chama e spray térmico (TS-FF-AAS).....	3
2. Prata	10
Objetivo.....	14
Materiais	15
Reagentes e Soluções.....	15
Amostras.....	15
Equipamentos e instrumentos	16
Procedimento Experimental.....	17
1. Arranjo experimental da TS-FF-AAS	17
2. Otimização do método	18
3. Avaliação dos concomitantes	19
4. Avaliação da interação entre algumas variáveis método	19
5. Avaliação da exatidão do método	21
5.1. Preparo da amostra de MA-A-2 (fish flesh homogenate).....	21
6. Aplicação do método em amostras não certificadas.....	22
Resultados e Discussão.....	23
1. Otimização do método	23
a) Avaliação do carregador.....	23

b) Avaliação da vazão do carregador	26
c) Avaliação do volume da alça de amostragem	27
d) Avaliação das condições da chama	31
d.1) Vazão de acetileno.....	32
d.2) Vazão de ar	33
e) Avaliação da vazão de H ₂ O no nebulizador	34
f) Avaliação do ácido diluente do analito	35
g) Avaliação da concentração do ácido diluente do analito.....	36
h) Avaliação do tubo metálico.....	37
2. Parâmetros analíticos do método	41
3. Estudo dos concomitantes.....	44
4. Avaliação da interação entre algumas variáveis do método	46
5. Avaliação da exatidão do método.....	49
6. Determinação de prata em amostras não certificadas.....	50
Amostras de peixe.....	50
Amostras de ostra	50
Conclusões	52
Referências bibliográficas.....	54

Lista de Abreviaturas e Acrônimos

AA – Absorção Atômica

APDC – Pirrolidilditiocarbamato de amônio

BG – Correção de fundo, do inglês, *background correction*

BIFF-AAS – do inglês, *Beam Injection Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*

CPE – extração por ponto nuvem, do inglês, *Cloud Point Extraction*

DDTC – dietilditiocarbamato de sódio

ETAAS- Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês, *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*

FAAS – Espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectrometry*

GFAAS – Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*

PAN – piridil-azo-naftol

TS-FF-AAS – Espectrometria de absorção atômica com tubo na chama e spray térmico, do inglês, *Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*

Lista de tabelas

Tabela 1. Parâmetros avaliados no desenvolvimento do método para determinação de Ag por TS-FF-AAS e suas faixas de estudo	18
Tabela 2. Ensaios experimentais realizados no planejamento 2^{4-1} (níveis codificados)	20
Tabela 3. Ensaios experimentais realizados no planejamento 2^{4-1}	20
Tabela 4. Programa de decomposição assistida por micro-onda aplicado ao material MA-A-2	21
Tabela 5. Temperatura média (n=5 para cada posição) dos tubos metálicos utilizados na chama do espectrômetro de absorção atômica.....	41
Tabela 6. Condições ótimas para determinação de Ag por TS-FF-AAS	42
Tabela 7. Resumo dos parâmetros analíticos do método	44
Tabela 8. Recuperação de prata na presença de diversos concomitantes (n=3, 95% de confiança).....	45
Tabela 9. Experimentos realizados no ensaio de robustez e respectivos sinais analíticos (em área integrada)	46
Tabela 10. Tabela de análise de variância para o ajuste de um modelo linear dos parâmetros avaliados no ensaio de robustez.....	47

Tabela 11. Comparação entre a concentração de prata obtida por TS-FF-AAS e a concentração de referência nos materiais certificados.....	49
Tabela 12. Programa de temperatura utilizado na determinação de prata por espectrometria de absorção atômica por atomização eletrotérmica	51

Lista de Figuras

- Figura 1.** Arranjo experimental da técnica TS-FF-AAS, proposta por Gáspár and Berndt em 2000. Adaptado da referência 20.....4
- Figura 2.** Comparação dos sinais analíticos obtidos por TS-FF-AAS (10 μL de solução 0,2 $\mu\text{g/mL}$) e FAAS para o chumbo. Adaptado da referência 20.....5
- Figura 3.** Representação simplificada das fontes de prata no ambiente. Adaptada da referência 4710
- Figura 4.** Esquema do arranjo experimental do sistema de TS-FF-AAS para determinação de prata. C = carregador, A = solução da amostra/padrão, L = alça de amostragem e D = descarte17
- Figura 5.** Perfis de sinais para solução de Ag 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2% em diferentes carregadores: (a) ar, (b) água, (c) HNO_3 0,2 % (v/v) e (d) Solução Ag 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 5 % (v/v) e HNO_3 5% como carregador, (e) Solução Ag 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ em tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4 e o mesmo tampão como carregador e (f) Solução Ag 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2% e mistura água:etanol 60:40 como carregador. Condições: volume da solução de analito injetado: 100 μL , chama 2 L min^{-1} acetileno: 12 L min^{-1} ar, vazão do carregador 0,4 mL min^{-1} , vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} , tubo de Ni 99,9% com 60 mm^2 de furação total (—AA,— BG).....25
- Figura 6.** Variação do sinal analítico na determinação de Ag em função da vazão do carregador. Condições: Solução de Ag 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2% (v/v), volume da solução de analito injetado: 100 μL , chama 2 L min^{-1} acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} , tubo de Ni 99,9% com 60 mm^2 de furação total26

Figura 7. Influência do volume de solução injetado no sinal analítico. Condições: Solução de Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2%, chama 2 L min^{-1} acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} e tubo de Ni 99,9% com 60 mm^2 de furação total28

Figura 8. Perfis de sinais para diferentes volumes de solução de Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ injetados: (a) $50 \mu\text{L}$, (b) $100 \mu\text{L}$, (c) $150 \mu\text{L}$ e (d) $200 \mu\text{L}$, (e) $250 \mu\text{L}$ (f) $300 \mu\text{L}$ e (g) $400 \mu\text{L}$. Condições: chama 2 L min^{-1} acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} e tubo de Ni 99,9% com 60 mm^2 de furação total (— AA, — BG)29

Figura 9. Perfil de sinal para diferentes volumes de solução de Ag $25 \mu\text{g L}^{-1}$ injetados: (a) $200 \mu\text{L}$, (b) $210 \mu\text{L}$ e (c) $220 \mu\text{L}$. Condições: chama $1,5 \text{ L min}^{-1}$ acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} e tubo de Ni 99,9% com 0 mm^2 de furação total (— AA, — BG)31

Figura 10. Variação do sinal analítico em função das vazões dos gases da chama. Condições: Solução de Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2 % (v/v), carregador: ar, volume injetado: $200 \mu\text{L}$, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} e tubo de Ni 99,9 % com 60 mm^2 de furação total.....33

Figura 11. Perfis de sinal obtido para soluções de Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em diferentes ácidos em concentração de 0,2% (v/v ou m/v): (a) ácido acético, (b) ácido cítrico, (c) ácido nítrico e (d) ácido sulfúrico. Condições: chama $1,5 \text{ L min}^{-1}$ acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} , volume injetado $200 \mu\text{L}$ e tubo de Ni 99% com 60 mm^2 de área total dos furos (—AA, — BG)35

Figura 12. Influência da concentração de ácido nítrico na intensidade do sinal analítico. Condições: Solução de Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$, chama $1,5 \text{ L min}^{-1}$ acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} , volume injetado $200 \mu\text{L}$ e tubo de Ni 99% com 60 mm^2 de área total dos furos (—AA, — BG)37

min⁻¹ ar, carregador: ar, vazão do carregador 0,4 mL min⁻¹, volume injetado: 200 µL, vazão de água no nebulizador 6 mL min⁻¹ e tubo de Ni 99,9% com 60 mm² de furação total (n = 3 para cada condição)37

Figura 13. Foto do tubo metálico mostrando os furos na parte inferior, cuja área total é de 40 mm²38

Figura 14. Variação do sinal analítico em função da área de furação dos tubos confeccionados em dois materiais: ■Tubo de Ni ● Tubo Inconell. Condições: Solução de Ag 50 µg L⁻¹ em HNO₃ 0,2% (v/v), chama 1,5 L min⁻¹ acetileno: 12 L min⁻¹ ar, carregador: ar, vazão do carregador 0,4 mL min⁻¹, vazão de água no nebulizador 6 mL min⁻¹, volume injetado 200 µL (n = 3 para cada condição)39

Figura 15. Posições de medidas da temperatura externa do tubo metálico40

Figura 16.Curva analítica obtida nas condições ótimas (n=3 injeções para cada padrão)42

Figura 17.Curva analítica obtida na região de trabalho (n=3 injeções para cada padrão)43

Figura 18. Significância das variáveis consideradas e das interações entre elas no método proposto48

Introdução

A prata é um elemento normalmente encontrado na natureza sob a forma de sulfeto de prata¹, que apresenta baixa toxicidade para os seres humanos², porém, dependendo de sua concentração, pode ser prejudicial ao meio ambiente³.

A determinação de prata pode ser realizada por meio de técnicas eletroquímicas⁴⁻⁶ e espectrométricas⁷⁻¹⁵, por exemplo. Dentre os métodos espectrométricos, pode-se destacar a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)⁷⁻¹⁰ e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS)¹¹⁻¹⁵.

A espectrometria de absorção atômica com chama — baseada na absorção de um comprimento de onda específico por átomos no estado de vapor, atomizados pela energia proveniente da chama do espectrômetro¹⁶ — é bastante empregada devido à sua simplicidade, robustez e seletividade. Entretanto, a técnica apresenta baixa sensibilidade¹⁷ para alguns analitos, dentre eles a prata, fazendo com que etapas de preconcentração sejam necessárias nesses casos.

Alguns trabalhos já publicados mostram a determinação de prata utilizando a FAAS e métodos de preconcentração, como extração em ponto nuvem^{8,9,18}, uso de dietilditiocarbamato de sódio (DDTC) adsorvido em microcoluna¹⁹ e uso de membrana de sílica modificada¹⁰. Contudo, o uso de etapas de preconcentração do analito apresenta desvantagens, tais como, maior tempo de análise, maior custo e aumento das fontes de erros.

Visando contornar as limitações da FAAS frente a alguns analitos e evitar etapas de preconcentração, pesquisadores propuseram o uso de tubos metálicos sobre a chama do espectrômetro de absorção atômica. Uma das técnicas em que se utiliza do tubo metálico na chama é a espectrometria de absorção atômica com tubo na chama e spray térmico (TS-FF-AAS, do inglês, *thermospray flame furnace*

atomic absorption spectrometry)²⁰, que já mostrou maior sensibilidade na detecção de elementos como Cd, Zn, Pb e outros²¹.

Considerando os trabalhos já desenvolvidos utilizando a espectrometria de absorção atômica com tubo metálico na chama e spray térmico, este trabalho busca ampliar o uso desta técnica, empregando-a na determinação de prata de forma a eliminar as etapas de preconcentração do analito.

Revisão Bibliográfica

1. Espectrometria de absorção atômica com tubo metálico na chama e spray térmico (TS-FF-AAS)

A espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS) é uma técnica analítica amplamente utilizada por sua simplicidade, seletividade e robustez. Porém, apresenta sensibilidade limitada para vários elementos, decorrente da baixa eficiência do processo de nebulização da amostra, no qual apenas uma pequena quantidade da amostra aspirada (5-10%) atinge a chama¹⁷. Visando contornar esta limitação, muitos métodos de preconcentração do analito podem ser utilizados, mas há na literatura muitas propostas que visam melhorar o processo de nebulização, buscando aumentar a eficiência da técnica²².

Assim, deu-se início ao estudo de novos atomizadores, que permitissem a introdução mais eficiente da amostra. Como exemplo, pode-se citar os tubos de quartzo, que são posicionados na chama do espectrômetro e, normalmente, utilizados para a inserção de amostras gasosas, obtidas por reações de formação de espécies voláteis²³.

Em 2000, duas outras técnicas que utilizam tubos na chama foram propostas: a *beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry*²⁴ (BIFF-AAS) e a *thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry* (TS-FF-AAS)²⁰. A BIFF-AAS e a TS-FF-AAS possuem arranjo experimental bastante semelhante. São compostas por um tubo na chama do espectrômetro de absorção atômica e um sistema para introdução de amostra, auxiliados por bombas. Na BIFF-AAS, a amostra é introduzida na forma de jatos em alta velocidade, auxiliada por uma bomba de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Esse jato deve permanecer estável por aproximadamente 10 cm, distância que percorre até impactar com a parede do tubo na chama e, para isso, sua velocidade mínima

deve ser de 12 m/s^{24} . Em 2002, um outro trabalho proposto por Gáspár e Berndt²⁵ também utilizou BIFF-AAS, mas nessa situação, o jato foi obtido com uma bomba peristáltica. Os autores confirmaram a superioridade da BIFF-AAS frente à FAAS, mostrando melhorias de 7 a 17 vezes nos limites de detecção de seis elementos.

Gáspár e Berndt, em 2000, também propuseram a *thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry* (TS-FF-AAS), ou espectrometria de absorção atômica com tubo na chama e spray térmico²⁰. Nessa técnica, diferentemente da BIFF-AAS, a amostra líquida é introduzida na forma de spray térmico. Um esquema do arranjo experimental utilizado na TS-FF-AAS está ilustrado na Figura 1.

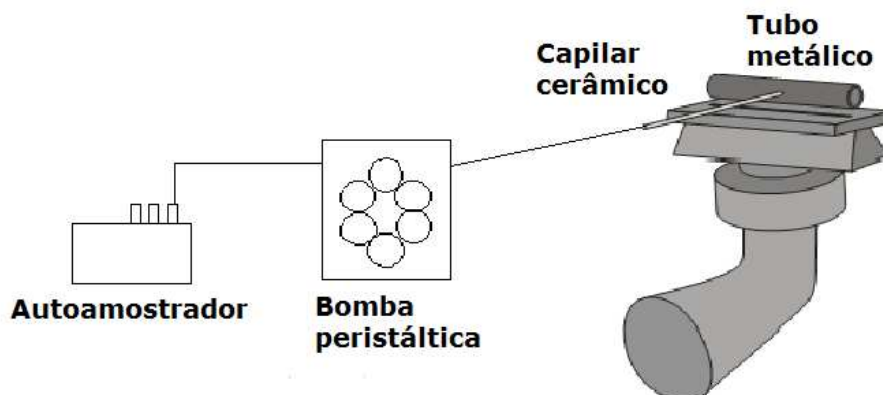


Figura 1. Arranjo experimental da técnica TS-FF-AAS, proposta por Gáspár and Berndt em 2000. Adaptado da referência 20.

Neste arranjo experimental, o tubo metálico apresenta um orifício na parte frontal para a introdução de um capilar cerâmico, que é aquecido por meio do contato com o tubo. Assim, o capilar apresenta um gradiente de temperatura que leva à formação do spray térmico. Como sistema propulsor da amostra, uma bomba de HPLC, bomba peristáltica ou bomba de diafragma podem ser utilizadas^{26,27}.

O primeiro trabalho publicado com a TS-FF-AAS também mostrou a superioridade desta técnica com relação à FAAS, comparando os limites de detecção de cinco analitos: cádmio, cobre, mercúrio, chumbo e tálio. Houve uma

melhora no limite de detecção (LD) entre 14 e 67 vezes, dependendo do elemento analisado²⁰. Além disso, os autores utilizaram o perfil de sinal para o chumbo para ilustrar a diferença entre os sinais obtidos, para o mesmo elemento, com a FAAS e a TS-FF-AAS, conforme Figura 2.

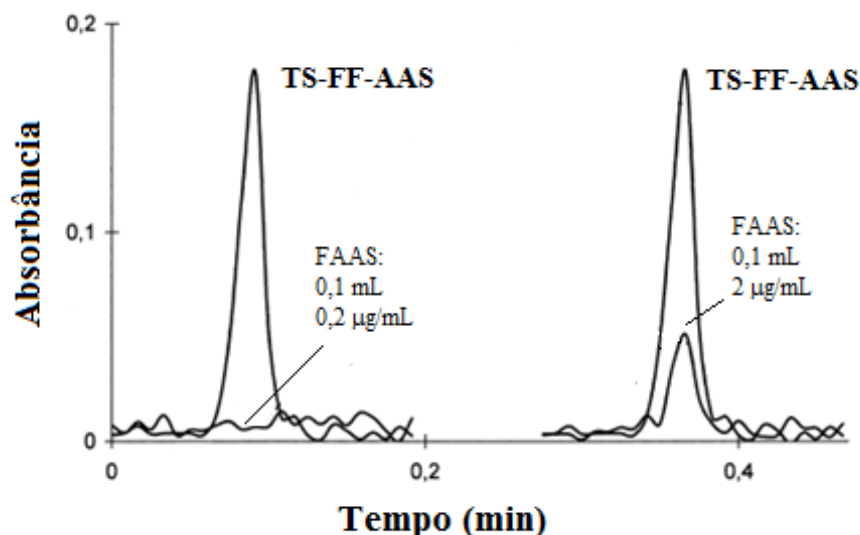


Figura 2. Comparação dos sinais analíticos obtidos por TS-FF-AAS (10 μL de solução 0,2 $\mu\text{g/mL}$) e FAAS para o chumbo. Adaptado da referência 20.

No lado esquerdo da Figura 2, os autores compararam a intensidade do sinal obtido nas duas técnicas com uma solução 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de chumbo e concluíram que mesmo usando um volume de solução 10 vezes maior na FAAS, não é possível detectar o analito. Já do lado direito, mesmo um volume 10 vezes menor de uma solução 10 vezes mais diluída de chumbo fornece um sinal bem mais intenso na TS-FF-AAS do que na FAAS, mostrando o ganho em detectabilidade da nova técnica.

Em 2003, Davies e Berndt²⁶ publicaram um trabalho no qual avaliaram capilares de três materiais (cerâmica, platina/irídio e aço inoxidável) para a introdução da amostra e formação do spray térmico. Os capilares de aço inoxidável forneceram altos valores para o branco das amostras devido ao uso de meio ácido, e os capilares de Pt/Ir apresentaram como desvantagem um custo

mais elevado do que os outros materiais testados. Sendo assim, o capilar cerâmico, apesar de ser mais frágil do que os outros materiais testados, forneceu maior sensibilidade e a melhor relação sinal/ruído²⁶, sendo, portanto, utilizado nos trabalhos publicados posteriormente. Estes autores também aplicaram a TS-FF-AAS a 17 analitos, utilizando tubo de níquel com 10 mm de diâmetro interno (tubo mais comumente utilizado) e, para todos os analitos avaliados, o limite de detecção foi menor do que na FAAS.

O fato de bons resultados analíticos serem obtidos mesmo utilizando o spray formado em baixas vazões e baixas pressões, fez com que Brancalion *et. al.*²⁸ estudassem o mecanismo de formação do spray térmico nessas condições. Os autores utilizaram-se de uma câmera com alta velocidade de aquisição e, por meio das filmagens, concluíram que o spray térmico é formado por jatos pulsados que emergem do capilar, sendo que entre dois desses jatos não há a liberação de líquidos. Após o impacto do jato na parede oposta do tubo metálico, grande quantidade de pequenas gotas é formada, sendo influenciadas pelo efeito de Leindenfrost, no qual uma camada de vapor a alta temperatura envolve e protege a gota. Portanto, na TS-FF-AAS, o spray é governado por componentes térmicas e, por isso, a vazão do carregador utilizado no sistema não deve ser elevada, pois, em altas vazões, não haverá troca de calor suficiente para promover a formação do spray, comprometendo o desempenho analítico²⁸.

Em 2009, esses mesmos autores publicaram um trabalho no qual relacionavam alguns parâmetros experimentais com a sensibilidade do método para a determinação de cádmio²⁹. Assim, Brancalion *et. al.* concluíram que a área de furação do tubo metálico e o tipo de carregador, utilizado para transportar a amostra até o tubo, são fatores importantes no método pois alteraram o ambiente ao qual o analito está exposto, e portanto, influenciam no mecanismo de atomização ou alteram a frequência dos jatos pulsados durante a formação do spray térmico. A exatidão do método proposto neste trabalho foi avaliada com materiais de referência certificados de fígado bovino, plâncton e centeio e os

limites de detecção obtidos com os diferentes carregadores estudados variaram de 0,8 a 1,8 $\mu\text{g g}^{-1}$.

A maior parte dos trabalhos sobre a TS-FF-AAS encontrados na literatura envolve a quantificação de cádmio³⁰⁻⁴⁰, devido sua baixa volatilidade. Nesses trabalhos, a TS-FF-AAS pode ou não ser precedida de etapas de preconcentração, sendo a extração por ponto nuvem (CPE) um dos métodos mais utilizados.

Wu *et. al.*³⁷ determinaram cádmio em água e urina após complexar o analito com pirrolidilditiocarbamato de amônio (APDC) e extraí-lo com Triton X-114, obtendo limite de detecção de 0,40 $\mu\text{g L}^{-1}$. No trabalho realizado por Coelho *et. al.*³³, a quantificação de Cd em amostras de água também teve uma etapa de extração por ponto nuvem. O analito foi extraído com Triton X-114 após reação com piridil-azo-naftol (PAN), proporcionando menor limite de detecção e quantificação (0,025 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,083 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente)³³. Um procedimento semelhante foi realizado por Rezende *et. al.*³⁹ para determinar o mesmo analito em amostras de refrigerante, usando meio tamponado em pH 9 e tubo de níquel com seis furos de 2 mm de diâmetro na parte inferior sobre a chama do espectrômetro, obtendo limite de detecção de 0,0178 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Outros trabalhos utilizaram-se da adsorção de cádmio realizada em espuma de poliuretano³², minicolumnas preenchidas com bagasso de uva³⁴, resina Chelex³⁵ e resina Amberlite XAD-4 (resina comercial de estireno-divinilbenzeno)³⁷ para preconcentrar o analito. Nesses casos, os limites de detecção foram de 120 ng L⁻¹, 30 ng L⁻¹, 30 ng L⁻¹ e 28 ng L⁻¹, respectivamente.

Pereira-Filho *et. al.* também mostraram a possibilidade de introduzir amostras em suspensão no tubo metálico colocado na chama do espectrômetro de absorção atômica³⁶. Os autores utilizaram amostras biológicas, como folhas e órgãos de animais, para as quais o limite de detecção de cádmio foi de 0,5 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Esses trabalhos mostram que limites de detecção cada vez menores podem ser obtidos aliando métodos de preconcentração do analito à TS-FF-AAS, e que

esta técnica espectrométrica também permite introduzir amostras na forma de suspensão, permitindo a análise de diversos tipos de amostra. Além dos trabalhos publicados para Cd, a TS-FF-AAS pode ser aplicada a analitos como cobre^{33,36,38,41-43}, chumbo^{30,33,36,41,44}, zinco^{38,41,43}, manganês⁴¹ e cobalto⁴⁵.

Limites de detecção a partir de 77 ng L⁻¹ podem ser obtidos, quando se utiliza preconcentração de zinco em resina de estireno-divinilbenzeno³⁸, situação na qual o limite de quantificação é de 260 ng L⁻¹ para amostras biológicas. Porém, mesmo sem utilizar métodos de preconcentração, baixos níveis de zinco foram determinados em sucos de frutas⁴³, leite⁴³ e cervejas⁴¹. Essas amostras foram somente diluídas⁴³ ou sonicadas⁴¹, e os limites de detecção e quantificação foram da ordem de 0,9 e 3,0 µg L⁻¹, respectivamente.

A TS-FF-AAS também foi utilizada na determinação de manganês também em amostras de cerveja⁴¹. Com essa técnica, o analito é determinado em concentração maior que 18 µg L⁻¹, enquanto que, na FAAS, esse analito só pode ser detectado em concentração maior que 123 µg L⁻¹.

Os métodos propostos na literatura para quantificar Pb são aplicados em diversas matrizes, dentre elas folhas e órgãos de animais³⁶, água^{33,44}, cerveja⁴¹ e vegetais⁴⁴. Sem utilizar etapas de preconcentração do analito, limites de detecção e quantificação de 1,5 e 5,2 µg L⁻¹, respectivamente, foram obtidos para as amostras de cerveja⁴¹ enquanto que, ao introduzir amostras biológicas na forma de suspensão³⁶, os limites de detecção e quantificação foram de 3,5 e 11 µg g⁻¹, respectivamente.

A determinação de cobre por TS-FF-AAS já foi demonstrada em amostras como cerveja⁴¹, sucos de frutas e leite⁴³, sendo que os limites de detecção e quantificação, reportados na literatura, são de 2,2 e 7,3 µg L⁻¹, respectivamente, em solução aquosa. Por outro lado, LD de 100 ng L⁻¹ e LQ de 330 ng L⁻¹ podem ser obtidos quando o cobre é preconcentrado em resina Amberlite XAD-4 (estireno- divinilbenzeno), antes de ser determinado por TS-FF-AAS³⁸.

Em 2009, Gomes e Pereira-Filho⁴² propuseram um novo arranjo de tubos metálicos como atomizador em TS-FF-AAS. Eles estudaram combinações de tubos de níquel e titânio, sendo que os tubos de Ti, em diferentes dimensões, eram colocados dentro do tubo de Ni, ficando, assim, mais protegidos e com maior tempo de vida. Usando a combinação de tubo de Ti com 7 cm de comprimento e 5,8 mm de diâmetro interno e tubo de Ni com 10 cm de comprimento e 10 mm de diâmetro interno, foi possível detectar concentrações a partir de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu em materiais certificados de folhas.

Uma estratégia utilizada para aplicar a TS-FF-AAS a elementos de média volatilidade é reagir o analito com um agente complexante capaz de formar um composto de menor volatilidade, facilitando o processo de atomização. Foi seguindo essa idéia que Matos e Arruda possibilitaram a determinação de cobalto em sedimentos com limite de detecção de $7 \mu\text{g L}^{-1}$, valor 17 vezes melhor quando comparado com a FAAS⁴⁵.

Portanto, a TS-FF-AAS é uma técnica promissora para a determinação de elementos em baixas concentrações, sendo tão sensível quanto a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, e, ainda, com as vantagens de ser simples e robusta^{21,46}.

2. Prata

O analito de interesse nessa Dissertação é a prata, cuja abundância é estimada em 10^{-6} % da crosta terrestre e é normalmente encontrada na forma de sulfeto de prata, sendo a argentita o minério mais importante^{1,3,17}.

A prata é conhecida há muito tempo devido à sua utilização em fotografias e como material para fabricação de moedas. Atualmente, a prata e seus compostos são aplicados como agentes bactericidas, em joias, espelhos, ligas para solda e baterias de alta capacidade^{1,17,19}.

A maior fonte de prata no meio ambiente está sob a forma de resíduo sólido, devido à presença de espelhos, componentes eletrônicos e outros, no lixo doméstico, conforme ilustra a Figura 3.

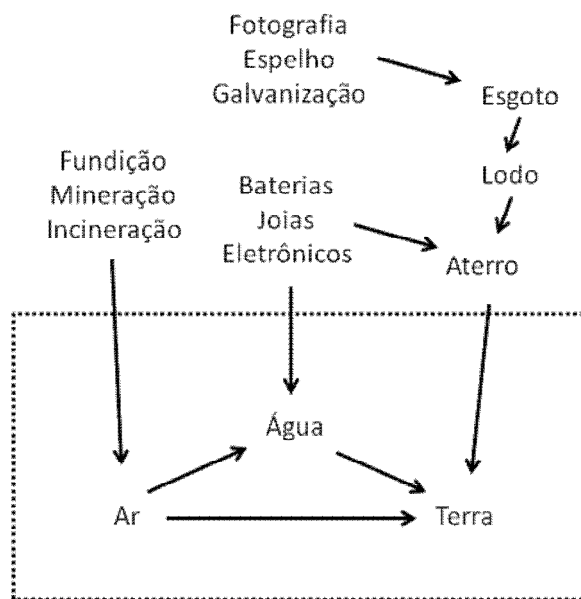


Figura 3. Representação simplificada das fontes de prata no ambiente. Adaptada da referência 47.

Este elemento não é essencial para a vida, mas pode ser tóxico para micro-organismos², sendo que sua toxicidade depende da forma e do meio no qual a

prata é encontrada⁴⁷. Nos solos, a prata é normalmente encontrada na forma de sulfetos e associada com ferro ou chumbo, e, nas águas, o íon Ag^+ é geralmente encontrado sob a forma de sais de sulfato, sulfeto ou carbonato, podendo ser encontrado também adsorvido em materiais orgânicos ou inorgânicos⁴⁷.

Alguns organismos marinhos são capazes de concentrar prata. Como exemplo, podemos citar mexilhão, com fator de preconcentração de prata (mg de Ag por kg de organismo dividido pela concentração de prata no ambiente, em mg L^{-1})³ de 330 e a ostra, com fator de preconcentração de 18700.

Na água, concentrações de prata na faixa de 0,45 a 4,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ podem prejudicar o crescimento de algas, ostras, caracóis e trutas³. A toxicidade da prata na água depende do grau de salinidade, isto porque a toxicidade da prata é atribuída em maior extensão ao íon Ag^+ , que pode se encontrar complexado com íon cloreto^{48,49}.

De acordo com a Resolução CONAMA⁵⁰ nº 357, a concentração máxima de prata em águas salinas é de 0,005 mg L^{-1} , enquanto que, em águas doces, esse valor é de 0,05 mg L^{-1} . Considerando essas concentrações, a determinação deste analito por espectrometria de absorção atômica requer o uso de métodos de preconcentração.

A prata pode se ligar em posições específicas nas brânquias dos peixes de água doce. Esses peixes precisam transportar íons através das brânquias para garantir os processos fisiológicos, e a prata pode se ligar ao sítio de ligação correspondente ao Mg^{2+} na enzima Na^+, K^+ -ATPase, evitando a hidrólise do ATP e inibindo o transporte de Na^+ e Cl^- . Além disso, a prata pode ser acumulada no sangue, rim e fígado e induzir à síntese da metalotioneínas⁴⁸, proteínas conhecidas por atuar no metabolismo de metais⁴⁹.

As plantas acumulam pouca prata originária do solo, sendo que a fase de germinação é a mais sensível à presença de nitrato de prata³. Tanto em animais quanto em humanos, a absorção de prata ocorre por meio do trato gastrointestinal, mucosas, pulmão e pele. No sangue, a maior parte da prata transportada está

ligada à globulina e, nos tecidos, esse elemento está presente na fração citosólica, ligado a metalotioneínas⁵¹.

Nos humanos, a argiria é uma doença típica de intoxicação por prata. O paciente com esse quadro clínico tem acúmulo de prata na pele e cabelos⁵¹. Um relato sobre a interação da prata com nutrientes essenciais, como vitaminas E e B12, também já foi publicado¹⁰.

Outra grande aplicação deste metal ocorre na forma de nanopartícula. Por ter ação bactericida e antiinflamatória, as nanopartículas de prata têm sido amplamente empregadas na indústria alimentícia, têxtil, médica, cosmética e em brinquedos⁵²⁻⁵⁵. Esse material pode ser sintetizado por redução química de um sal de prata com tetraboridreto de sódio, hidrazina ou citrato, por exemplo, ou por fotoredução por meio de luz UV^{52,54}, transformando Ag^+ em Ag^0 . Além desse método, também é possível obter as nanopartículas por meio dos chamados “métodos verdes”, dentre os quais podemos citar o uso de polissacarídeos (como a β -d-glucose) e os métodos biológicos, que utilizam extratos contendo proteínas, vitaminas e aminoácidos retirados de algas, bactérias e fungos^{52,56}.

Porém, as nanopartículas de prata podem apresentar efeitos indesejados à saúde humana e ao meio ambiente. Há indícios de que após inalação, esse material pode ser encontrado por todo o corpo⁵⁷, podendo causar danos às mitocôndrias e ao DNA. Em ratos, estudos mostram que a atividade dos pulmões pode ser reduzida devido às nanopartículas de prata; além disso, algumas lesões inflamatórias também podem ser produzidas nesses órgãos⁵⁴.

Quando exposta ao meio ambiente, a nanoprata pode ser rapidamente convertida em sulfeto de prata, uma forma menos tóxica que os íons do metal^{57,58}. Ainda assim, devido à crescente aplicação desse material, pode ocorrer maior liberação das nanopartículas no ambiente aquático. Dessa forma, a saúde humana pode ser comprometida já que os peixes podem concentrar essa espécie de prata⁵⁶.

Devido à toxicidade relativa da prata, sua determinação é de grande importância. Uma das técnicas espectrométricas empregadas na determinação desse elemento é a espectrometria de absorção atômica com chama, porém, a baixa sensibilidade¹⁷ requer o uso de alguns métodos de preconcentração.

Vários métodos de preconcentração de prata podem ser encontrados na literatura, fazendo uso de coluna de sílica contendo nanotubos de carbono⁵⁹, extração em ponto nuvem^{9,18} e uso de DDTC (dietilditiocarbamato) adsorvido em microcoluna¹⁹, entre outros. Por outro lado, a TS-FF-AAS é uma alternativa a FAAS, que garante baixos limites de detecção sem a necessidade dos métodos de preconcentração.

Objetivo

O objetivo deste trabalho é ampliar o uso da técnica de espectrometria de absorção atômica utilizando tubo metálico na chama e spray térmico, aplicando-a para a determinação de prata em amostras ambientais (água, peixe e ostra).

Materiais

Reagentes e soluções

- Solução padrão de prata 1000 mg L⁻¹ da marca Qhemis
- Soluções padrão 1000 mg L⁻¹ de Be, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, Pb, Sn e Zn, das marcas Qhemis e Tec-Lab
- Ácido nítrico concentrado sub-destilado, da marca Merck
- Peróxido de Hidrogênio 30%, da Marca Merck
- Ácido sulfúrico 95-97%, da marca Merck
- Ácido acético glacial, da marca JTBaker
- Ácido cítrico anidro p.a., da marca Synth
- Acetato de sódio anidro p.a., marca Nuclear
- Etanol da marca JTBaker

Quando pertinente, as soluções foram preparadas com água grau Milli-Q®.

Amostras

- Material certificado de referência MA-A-2 (Fish Flesh Homogenate), da International Atomic Energy Agency
- Material certificado de referência SRM 1643e (Trace Elements in water), do National Institute of Standards & Technology
- Amostra de ostra
- Amostra de mapará (*Hipophtolmus ssp*)
- Amostra de merluza (*Merluccius spp*)

Equipamentos e Instrumentos

- Injetor comutador em acrílico
- Bomba peristáltica Ismatec IPC e tubos de Tygon
- Tubo de níquel 99,9% (Camacam) com 10 cm de comprimento, 1 cm de diâmetro interno e abertura na parte frontal com 3 mm de diâmetro
- Capilar cerâmico com 10 cm de comprimento, 0,5 mm de diâmetro interno
- Espectrômetro de absorção atômica com chama Perkin Elmer AAnalyst 300, equipado com lâmpada de deutério para correção de fundo
- Espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite Perkin Elmer AAnalyst 600
- Lâmpada de catodo oco para prata, da marca Perkin Elmer (10 mA de corrente)
- Pirômetro óptico Ircon Ultimax™ 20 Infrared Thermometer
- Forno Micro-ondas Provecto Analítica DGT 100 Plus
- Banho de areia Quimis

Procedimento Experimental

1. Arranjo Experimental da TS-FF-AAS

O arranjo experimental da espectrometria de absorção atômica com tubo na chama e spray térmico está ilustrado na Figura 4. Neste arranjo experimental, a alça de amostragem (L) é preenchida com a solução do analito (A), auxiliada pela bomba peristáltica. Após o preenchimento da alça de amostragem, o injetor é comutado e o carregador transporta a solução do analito até o interior do tubo metálico, localizado sobre o queimador do espectrômetro de absorção atômica, por meio do capilar cerâmico. O tubo é posicionado de modo que seu comprimento total seja aquecido pela chama e o orifício para entrada do capilar fique perpendicular em relação à chama do espectrômetro, é preciso cuidado para ajustar o feixe da radiação no interior do tubo.

No interior do tubo metálico, o analito é atomizado e para a sua detecção utilizou-se uma lâmpada de catodo oco (corrente de 10 mA e 0,7 nm de fenda). Os dados foram registrados em área integrada. Antes da primeira injeção da solução de amostra, deve-se aguardar a estabilização da temperatura do tubo por 20 min.

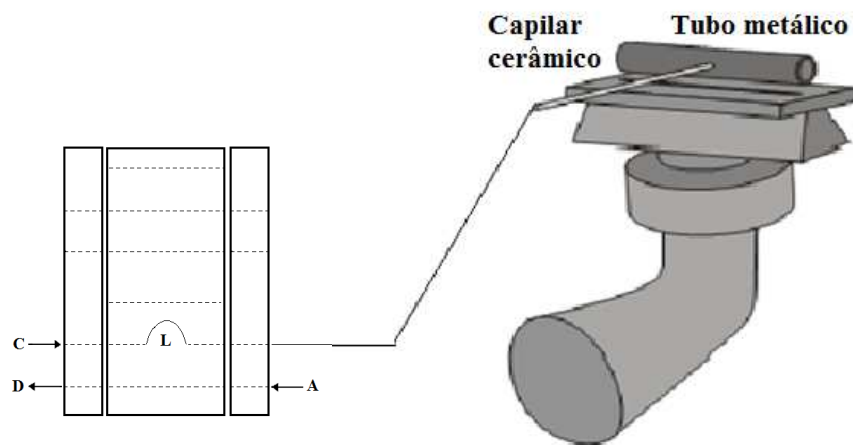


Figura 4. Esquema do arranjo experimental do sistema de TS-FF-AAS para determinação de prata. C = carregador, A = solução da amostra/padrão, L = alça de amostragem e D = descarte.

2. Otimização do método

A avaliação da melhor condição para cada um dos parâmetros envolvidos neste método foi realizada de modo univariado. Os parâmetros avaliados e as faixas de estudo estão resumidos na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros avaliados no desenvolvimento do método para determinação de Ag por TS-FF-AAS e suas faixas de estudo.

Parâmetros estudados	Faixa de estudo
Carregador	HNO ₃ 0,2% (v/v), HNO ₃ 5% (v/v), ar, água, mistura etanol:água 60:40 (v/v), tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ pH 4
Vazão do carregador	0,2 – 1,5 mL min ⁻¹
Volume da alça	50 - 400 µL
Vazão de acetileno	1,5 - 4,0 L min ⁻¹
Vazão de ar	7 - 14 L min ⁻¹
Vazão de H₂O no nebulizador	1,0 – 6,0 mL min ⁻¹
Tubo metálico	Materiais: Inconel e Níquel – Furação: 0 - 60 mm ²
Ácido diluente do analito	Ácidos nítrico, sulfúrico, acético e cítrico
Concentração do ácido	0,1 - 1,0% (v/v)

A avaliação destes parâmetros foi realizada com solução de prata na concentração de 100 µg L⁻¹ em HNO₃ 0,2% (v/v), exceto no estudo do tubo metálico, no qual foi utilizada uma solução de Ag 50 µg L⁻¹ em HNO₃ 0,2% (v/v).

As medidas de temperatura do tubo metálico foram realizadas com o auxílio de um pirômetro óptico Ircon Ultimax TM 20 Infrared Thermometer em 4 posições diferentes do tubo metálico: nas extremidades e nas regiões imediatamente ao lado do capilar cerâmico.

Para a escolha da melhor condição, levou-se em consideração a maior intensidade do sinal analítico, bem como o melhor perfil de sinal analítico, de modo que a condição ótima garantisse o menor limite de detecção (calculado

como $3\sigma/s$, onde: σ é o desvio padrão para 10 leituras do branco e s é a inclinação da curva analítica) para o método.

3. Avaliação dos concomitantes

Nesta etapa, utilizou-se solução de prata com concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2% (v/v) e os elementos avaliados como concomitantes foram escolhidos com base na matriz dos materiais certificados de referência. Os onze elementos escolhidos foram: berílio, cádmio, cobre, cobalto, estanho, molibdênio, lítio, chumbo, cromo, zinco e manganês. Todos eles foram avaliados nas proporções (analito: concomitante) 1:1, 1:10 e 1:100 e os elementos cobre, lítio e chumbo foram também estudados na proporção 1:500, os elementos cromo e zinco também foram estudados na proporção 1:1000 e manganês, na proporção 1:2000.

4. Avaliação da interação entre algumas variáveis do método

Para verificar a robustez do método, quatro variáveis (fatores) foram escolhidas para serem avaliadas simultaneamente: vazão do carregador, volume da alça de amostragem, vazão de ar e vazão de água no nebulizador. Essas variáveis foram escolhidas com base no ensaio univariado e, também, considerando a praticidade experimental da variação das mesmas. Com esses parâmetros, 8 ensaios foram elaborados por planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , e a triplicata envolvendo a condição ótima do método também foi realizada. A Tabela 2 foi obtida pelo software Statística StatSoft Trial para os ensaios e mostra os níveis codificados dos fatores estudados.

Tabela 2. Ensaios experimentais realizados no planejamento 2^{4-1} (níveis codificados).

Ensaio	Vazão do Carregador	Volume Injetado	Vazão de Ar	Vazão de Água no nebulizador
1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	1
3	-1	1	-1	1
4	1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	1
6	1	-1	1	-1
7	-1	1	1	-1
8	1	1	1	1

Substituindo esses valores pelas condições experimentais correspondentes, têm-se os ensaios representados na Tabela 3. As demais variáveis do método (tipo de carregador, vazão de acetileno, tipo e concentração do ácido diluente do analito e tubo metálico) foram mantidas constantes e iguais às condições ótimas, determinadas no estudo univariado.

Tabela 3. Ensaios experimentais realizados no planejamento 2^{4-1} .

Ensaio	Vazão do carregador / mL min ⁻¹	Volume injetado / µL	Vazão de ar / L min ⁻¹	Vazão de água no nebulizador / mL min ⁻¹
1	0,36	180	10,8	5,4
2	0,44	180	10,8	6,6
3	0,36	220	10,8	6,6
4	0,44	220	10,8	5,4
5	0,36	180	13,2	6,6
6	0,44	180	13,2	5,4
7	0,36	220	13,2	5,4
8	0,44	220	13,2	6,6

Estes ensaios foram executados com solução de prata com concentração de 10 µg L⁻¹ em ácido nítrico 0,2% (v/v) e em ordem aleatória. As intensidades do sinal analítico (n=3) foram obtidas para cada ensaio e analisadas estatisticamente pelo software Statistica Trial Versão 10.

5. Avaliação da exatidão do método

O uso de materiais certificados de referência permitiu a avaliação da exatidão do método. Nesta etapa, dois materiais certificados foram utilizados: MA-A-2 (Fish Flesh Homogenate) e SRM 1643e (Trace Elements in Water). O material SRM 1643e não foi submetido a qualquer etapa de preparo de amostra, apesar de sua elevada acidez, conforme descrito na carta de referência do material. Por outro lado, o material MA-A-2 foi submetido a um procedimento de digestão assistida por micro-ondas, conforme descrito no item 5.1.

5.1. Preparo da amostra de MA-A-2 (fish flesh homogenate)

Para o preparo do material certificado, foi utilizada uma massa de 200 mg, à qual foram adicionados 4 mL de HNO_3 concentrado sub-destilado e 0,3 mL de H_2O_2 30%. Após 20 minutos de pré-digestão, esta mistura foi submetida à decomposição assistida por micro-ondas, conforme o programa da Tabela 4:

Tabela 4. Programa de decomposição assistida por micro-ondas aplicado ao material MA-A-2.

Tempo / min	Potência / W
6	330
3	530
3	660
3	0

Em seguida, a mistura foi seca até quase secura, em banho de areia, e avolumada para 10 mL com HNO_3 0,2% (v/v). O procedimento foi realizado em triplicata para o material certificado, assim como para os brancos analisados.

6. Aplicação do método em amostras não certificadas

Amostras de peixe e ostra não certificadas também foram analisadas por espectrometria de absorção atômica com tubo na chama e spray térmico. Essas amostras já foram obtidas secas e moídas e, para as amostras de peixe, o procedimento de preparo da amostra utilizado foi o mesmo empregado na digestão do material certificado MA-A-2 e descrito no item 5.1 (página 21).

As amostras não certificadas de ostra também foram submetidas à decomposição assistida por micro-ondas. Em 200 mg desse material, foram adicionados 4 mL de ácido nítrico concentrado sub-destilado e 1 mL de H_2O_2 30% (v/v). Esta mistura foi submetida à digestão após um período de 20 min de pré-digestão e o programa utilizado foi o mesmo empregado para o material certificado MA-A-2, descrito no item 5.1 (página 21). A mistura obtida após a digestão também foi seca até quase secura e o volume foi completado para 10 mL com HNO_3 0,2% (v/v).

Resultados e Discussão

1. Otimização do método

A otimização do método foi realizada de modo univariado, com cada um dos parâmetros experimentais estudado separadamente. De posse dos resultados obtidos, a condição experimental que proporcionou maior intensidade do sinal analítico, juntamente com o melhor perfil de sinal, foi considerada como condição ótima.

Em alguns casos, foi necessário escolher as duas melhores condições e obter curvas analíticas, a partir das quais se calculou as menores concentrações de prata a serem detectadas e quantificadas pelo método proposto. Nesse caso, foi escolhida como condição ótima aquela que proporcionasse a menor concentração possível de ser detectada.

a) Avaliação do carregador

Dentro de um sistema de injeção em fluxo, o carregador é o responsável por transportar a solução do analito até onde ocorrerá a detecção. No sistema em estudo, o carregador transporta a solução do analito até o interior do tubo, onde ocorre a atomização e detecção do analito.

Seis tipos de carregadores foram estudados neste trabalho: ar, água deionizada grau Milli-Q, solução de HNO_3 0,2% (v/v), solução de HNO_3 5% (v/v), tampão ácido acético/acetato de sódio 0,1 mol L^{-1} pH 4,0 e mistura água: etanol 60:40 (v/v). A solução tampão e a mistura água:etanol foram utilizadas com o intuito de aumentar a volatilização do meio que contém analito, e durante o estudo

realizado, foi possível perceber que o perfil do sinal analítico é altamente dependente do tipo de carregador utilizado. A Figura 5 mostra o perfil de sinal analítico para cada um dos carregadores utilizados.

A partir da Figura 5, nota-se que quando o carregador utilizado é água deionizada, solução de HNO_3 0,2% (v/v), solução de HNO_3 5% (v/v), tampão ácido acético/acetato de sódio 0,1 mol L^{-1} pH 4,0 ou mistura água: etanol 60:40 (v/v), o perfil do sinal analítico é muito semelhante, e corresponde apenas às oscilações devido ao bombeamento da bomba peristáltica. Além disso, a intensidade do sinal analítico é muito pequena, correspondendo somente a ruído.

Por outro lado, ainda na Figura 5, pode-se perceber que o ar é o único carregador que apresenta um bom perfil de sinal analítico, com maior intensidade quando comparado com os outros carregadores. Essa maior intensidade do sinal analítico decorre da maior homogeneidade da solução injetada quando o ar é utilizado como carregador. O ar envolve a solução, limitando o espaço disponível para a mesma e provocando, assim, um efeito turbulento que diminui a dispersão da amostra e favorece a homogeneidade da solução⁶⁰. Por esse motivo, o ar foi escolhido como o carregador do método proposto.

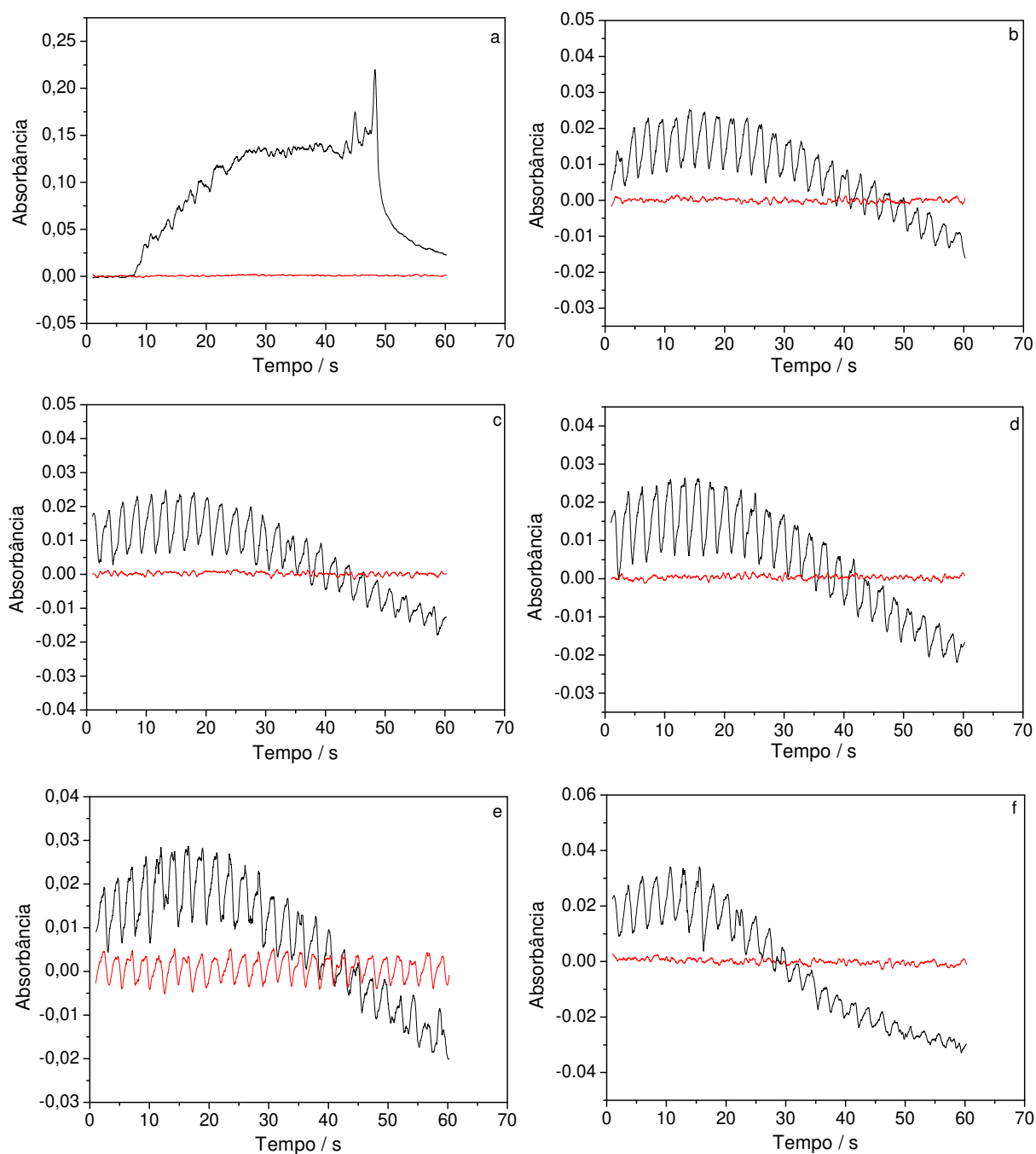


Figura 5. Perfis de sinal para solução de Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2% em diferentes carregadores: (a) ar, (b) água, (c) HNO_3 0,2% (v/v) e (d) solução Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 5% (v/v) e HNO_3 5% como carregador; (e) Solução Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4 e o mesmo tampão como carregador; (f) Solução Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2% (v/v) e mistura água:etanol 60:40 (v/v) como carregador. Condições: volume da solução de analito injetado: $100 \mu\text{L}$, chama 2 L min^{-1} acetileno: 12 L min^{-1} ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} , tubo de Ni 99,9% com 60 mm^2 de furação total (—AA, —BG).

b) Avaliação da vazão do carregador

A vazão do carregador deve ser cuidadosamente avaliada, pois está diretamente relacionada com a formação do spray e, conseqüentemente, com a eficiência da introdução da amostra e atomização do analito²⁸.

As vazões estudadas variaram entre 0,2 e 1,5 mL min⁻¹. Essas vazões foram controladas ajustando-se a bomba peristáltica. A Figura 6 mostra a variação do sinal analítico em função das diferentes vazões do carregador utilizadas.

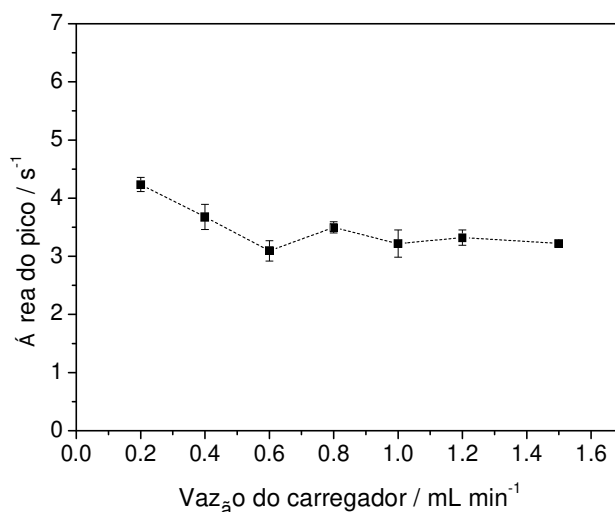


Figura 6. Variação do sinal analítico na determinação de Ag em função da vazão do carregador. Condições: solução de Ag 100 µg L⁻¹ em HNO₃ 0,2% (v/v), volume da solução de analito injetado: 100 µL, chama 2 L min⁻¹ acetileno: 12 L min⁻¹ ar, carregador: ar, vazão de água no nebulizador 6 mL min⁻¹, tubo de Ni 99,9% com 60 mm² de furação total (n=3 para cada condição).

Para a vazão de 0,2 mL min⁻¹, a área média do pico analítico foi de 4,235 s⁻¹, enquanto que para a vazão de 1,5 mL min⁻¹ este sinal foi de 3,220 s⁻¹. Esta diminuição do sinal analítico corresponde a 24% e pode ser explicada considerando o mecanismo de formação do spray térmico, que apresenta um comportamento pulsado e é governado por componentes térmicos e não mecânicos, pois, ao colidir na parede do tubo metálico, esse jato se fragmenta em gotas menores que passam a ser controladas pelo efeito de Leindenfrost (quando

um líquido entra em contato com a superfície quente do tubo metálico, é protegido pela camada de vapor que o envolve). Sendo assim, usando vazão de carregador maior que $1,5 \text{ mL min}^{-1}$, o spray térmico não é formado, uma vez que as componentes térmicas do sistema não conseguem trocar energia suficiente durante o percurso dos fluidos dentro do sistema²⁸. Os resultados obtidos nessa dissertação mostram a mesma tendência, pois ao aumentar a vazão do ar usado como carregador, a intensidade do sinal analítico diminui, ou seja, quanto maior a quantidade de solução que é introduzida no tubo, mais difícil a formação do spray.

Portanto, devem-se utilizar baixas vazões do carregador. Considerando a vazão de $0,2 \text{ mL min}^{-1}$, condição com a maior intensidade do sinal, a frequência analítica fica comprometida. Logo, a vazão de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ foi considerada como vazão ótima, uma vez que apresenta o melhor compromisso entre a intensidade do sinal analítico e a frequência analítica.

c) Avaliação do volume da alça de amostragem

O volume de solução introduzido no tubo metálico foi avaliado entre 50 e 400 μL . Conforme esperado para um sistema de injeção em fluxo⁶¹, quanto maior o volume de solução injetado, maior a intensidade do sinal analítico. A variação da intensidade do sinal analítico em função do volume de amostra é ilustrada na Figura 7.

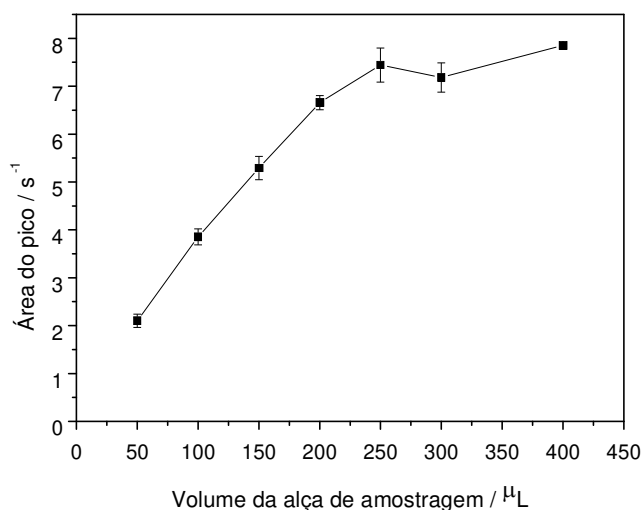


Figura 7. Influência do volume de solução injetado no sinal analítico. Condições: Solução de Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2%, chama 2 L min^{-1} acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} e tubo de Ni 99,9% com 60 mm^2 de furação total ($n = 3$ para cada condição).

Entre os volumes de 50 e $400 \mu\text{L}$, o aumento na intensidade do sinal foi de 374%, porém, na avaliação desse parâmetro, o perfil do sinal analítico também deve ser considerado, pois o aumento da quantidade de analito injetada prejudica o perfil do sinal, que é limitado pelo tempo de integração aceito pelo espectrômetro de absorção atômica. Os perfis de sinal obtidos para os volumes estudados estão ilustrados na Figura 8.

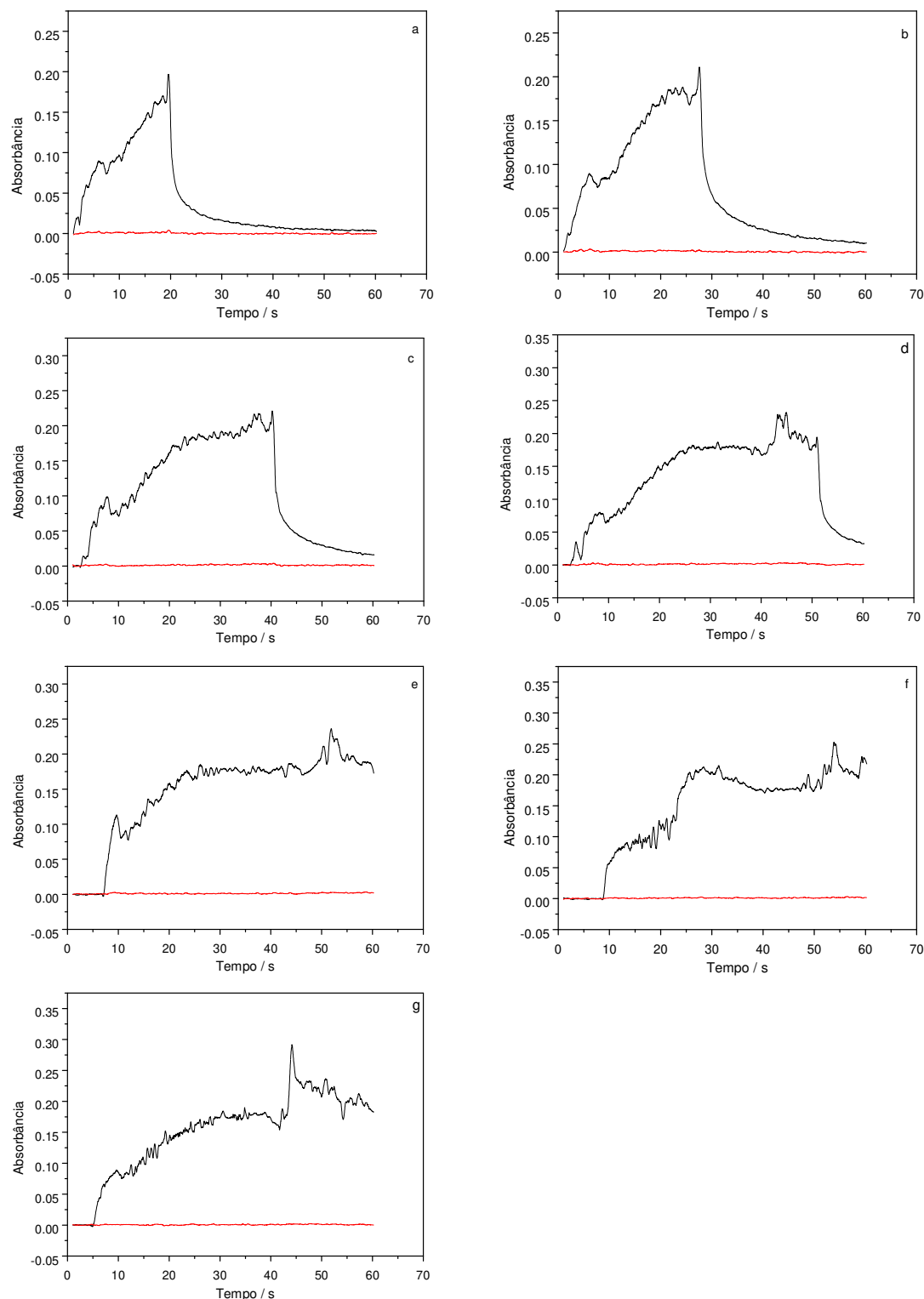


Figura 8. Perfis de sinal para diferentes volumes de solução de Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ injetados: (a) $50 \mu\text{L}$, (b) $100 \mu\text{L}$, (c) $150 \mu\text{L}$ e (d) $200 \mu\text{L}$, (e) $250 \mu\text{L}$ (f) $300 \mu\text{L}$ e (g) $400 \mu\text{L}$. Condições: chama 2 L min^{-1} acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} e tubo de Ni 99,9% com 60 mm^2 de furação total (— AA, — BG).

A partir da Figura 8, é possível perceber que, para volumes maiores que 250 μL , não há retorno do sinal dentro do tempo de integração utilizado, que foi de 1 minuto. Assim, os volumes de 150 e 200 μL foram estudados novamente para avaliar qual deles garantiria a melhor condição a ser utilizada neste método.

Para cada uma dessas condições, uma curva analítica foi obtida e as menores concentrações detectadas e quantificadas foram calculadas. As curvas analíticas construídas nesse estudo utilizaram concentrações de prata de 15 a 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ e os dados experimentais obtidos para cada um desses volumes podem ser representados pelas equações: $y = 0,0541 \cdot x - 0,185$ para 150 μL (onde y é o sinal analítico e x é a concentração de prata, em $\mu\text{g L}^{-1}$) e $y = 0,0707 \cdot x - 0,092$, para 200 μL . Os limites de detecção e quantificação foram de, respectivamente, 2,9 e 9,7 $\mu\text{g L}^{-1}$, para 150 μL , e de 0,7 e 2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$, para 200 μL . Por ser a condição que permite detectar e quantificar as menores concentrações, o volume de 200 μL foi escolhido como condição ótima.

Apesar dos resultados mostrados acima, durante a avaliação da exatidão do método, devido à elevada acidez do material certificado utilizado (0,8 mol L^{-1} de HNO_3 , que corresponde a 5,5% (v/v)), uma nova avaliação do volume de solução injetado foi necessária. Dessa vez, os volumes avaliados foram próximos aos volumes considerados ótimos, ou seja, 210 e 220 μL . De 200 μL para 210 μL , o sinal analítico diminuiu 2%, com a área do pico analítico diminuindo de 3,307 s^{-1} para 3,224 s^{-1} , aproximadamente. Por outro lado, de 200 μL para 220 μL , o sinal analítico aumentou aproximadamente 0,9%, com a área do pico aumentando para 3,336 s^{-1} . Além disso, o perfil do sinal analítico não foi prejudicado com o aumento do volume injetado, conforme Figura 9.

Portanto, o volume ótimo deve ser de 220 μL quando a solução do analito apresentar acidez elevada, como no caso do material certificado SRM 1643e, que apresentava concentração de ácido nítrico de aproximadamente 0,8 mol L^{-1} (5,5%).

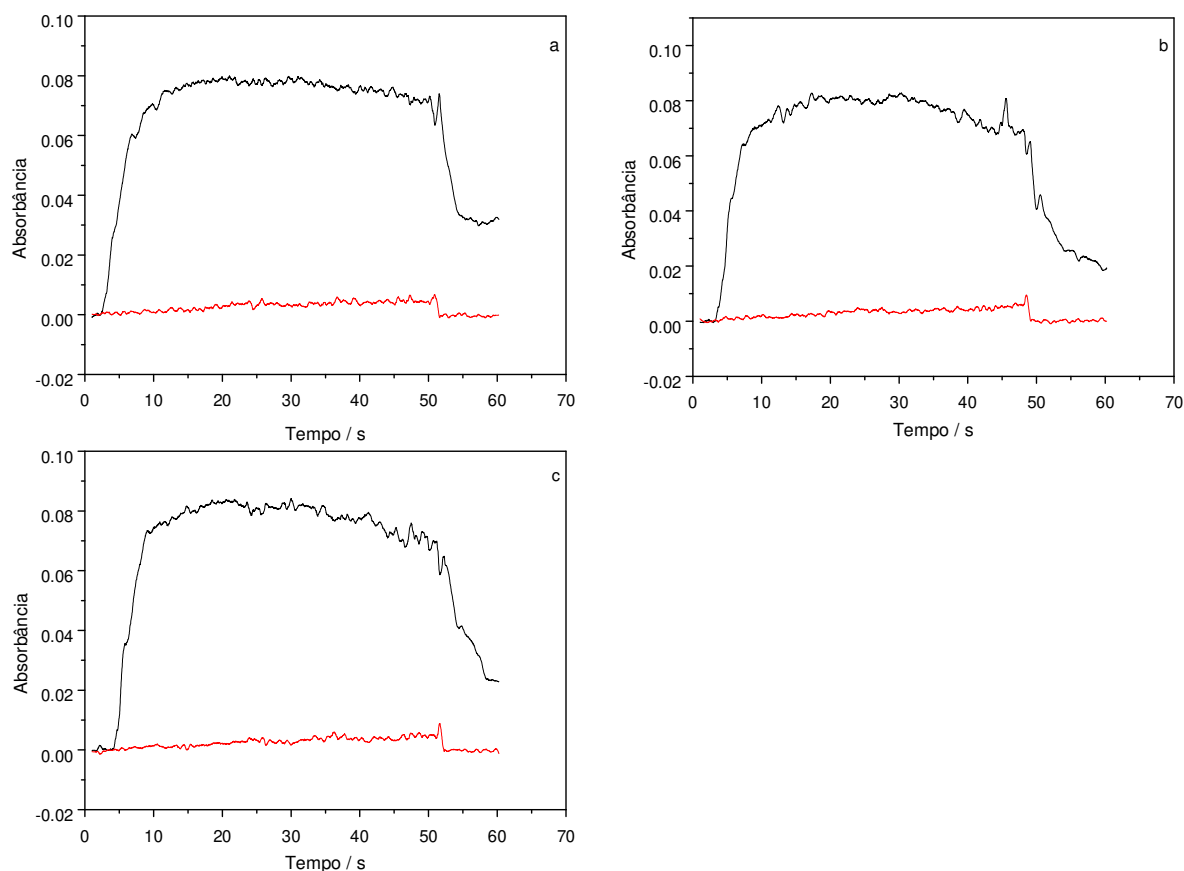


Figura 9. Perfis de sinal para diferentes volumes injetados de solução de Ag $25 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 5,5% (v/v): (a) $200 \mu\text{L}$, (b) $210 \mu\text{L}$ e (c) $220 \mu\text{L}$. Condições: chama $1,5 \text{ L min}^{-1}$ acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} e tubo de Ni 99,9% com 0 mm^2 de furação total (— AA, — BG).

d) Avaliação das condições da chama

As proporções entre os gases da chama determinam o ambiente mais favorável para a atomização do analito. A atomização da prata ocorre por formação de óxidos, sendo assim, uma chama oxidante deve ser utilizada¹⁶. Para determinar a proporção exata entre acetileno e ar, cada um dos gases foi estudado separadamente.

d.1) Vazão de acetileno

Para estudar a vazão de acetileno na faixa de $1,5 \text{ L min}^{-1}$ a $4,0 \text{ L min}^{-1}$, a vazão de ar foi mantida constante a 12 L min^{-1} . Com os resultados obtidos nesse estudo, foi possível perceber que, para maiores vazões de acetileno, o sinal analítico diminui *ca.* 9% (se a vazão de acetileno for de 3 L min^{-1}) e *ca.* 4% (se a vazão de acetileno for de 4 L min^{-1}) se comparados com a vazão de 2 L min^{-1} . A Figura 10 mostra a variação do sinal analítico em função da vazão dos gases constituintes da chama. Neste caso, baixas vazões de acetileno devem ser utilizadas ($1,5 \text{ L min}^{-1}$ ou 2 L min^{-1}), e para determinar qual a melhor condição, construiu-se uma curva analítica para cada uma das menores vazões. As curvas foram construídas com concentração de prata entre 5 e $50 \mu\text{g L}^{-1}$. Para a vazão de $1,5 \text{ L min}^{-1}$, a equação obtida para a curva analítica foi $y = 0,0687 \cdot x - 0,044$ e para a vazão de $2,0 \text{ L min}^{-1}$, foi $y = 0,0707 \cdot x - 0,092$, sendo que y é o sinal analítico em área do pico e x a concentração de prata, em $\mu\text{g L}^{-1}$. Para estas vazões, os limites de detecção e quantificação obtidos foram de, respectivamente, $0,37 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,22 \mu\text{g L}^{-1}$, para $1,5 \text{ L min}^{-1}$ de acetileno e $0,70 \mu\text{g L}^{-1}$ e $2,4 \mu\text{g L}^{-1}$ para 2 L min^{-1} do gás. De acordo com os resultados, a vazão de $1,5 \text{ L min}^{-1}$ foi adotada como condição ótima e fixada para o estudo da vazão de ar. Sendo assim, esta condição é concordante com o mecanismo de atomização da prata, que por ocorrer via formação de óxidos¹⁶ e sua termo-decomposição na chama, requer baixa proporção de acetileno.

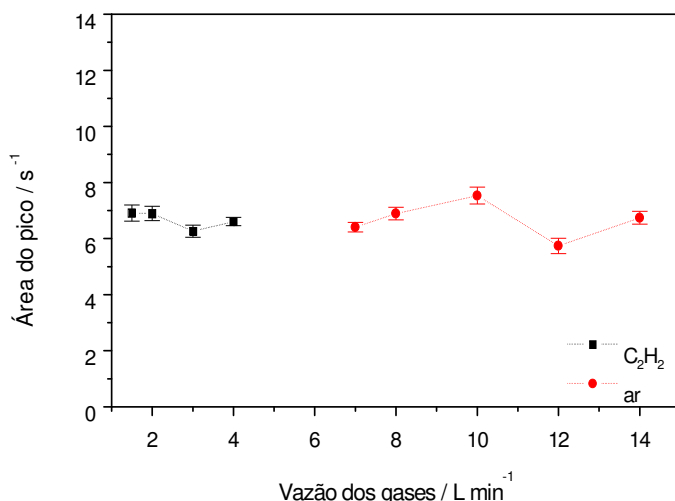


Figura 10. Variação do sinal analítico em função das vazões dos gases da chama. Condições: Solução de Ag 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2 % (v/v), carregador: ar, volume injetado: 200 μL , vazão do carregador 0,4 mL min^{-1} , vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} e tubo de Ni 99,9 % com 60 mm^2 de furação total.

d.2) Vazão de ar

A vazão de ar foi avaliada entre 7 e 14 L min^{-1} , mantendo-se a vazão de acetileno constante em 1,5 L min^{-1} . Com relação à vazão que estava sendo utilizada desde o início da otimização (12 L min^{-1}), todas as outras condições estudadas proporcionaram maior intensidade do sinal analítico, conforme ilustrado na Figura 10. O maior aumento da intensidade do sinal analítico ocorreu quando se utilizou 10 L min^{-1} de ar, e foi de aproximadamente 31%, com relação a 12 L min^{-1} . Nesse caso, a área do sinal analítico variou de ca. de 5,738 s^{-1} para ca. de 7,533 s^{-1} .

Uma curva analítica foi obtida entre 5 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de prata, para avaliar o limite de detecção e quantificação do método com a vazão de 10 L min^{-1} de ar. A equação que representa essa curva analítica é $y = 0,0713 \cdot x - 0,061$ (sendo y o sinal analítico em s^{-1} e x, a concentração de prata em $\mu\text{g L}^{-1}$) e os limites de detecção e quantificação calculados foram de 0,44 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 1,48 $\mu\text{g L}^{-1}$,

respectivamente. Por apresentar maior quantidade mínima que pode ser detectada quando comparada com a vazão de 12 L min^{-1} ar ($0,37 \mu\text{g L}^{-1}$), a vazão de 10 L min^{-1} não foi escolhida como vazão ótima, que ficou mantida em 12 L min^{-1} .

e) Avaliação da vazão de água no nebulizador

Água deionizada é constantemente aspirada no nebulizador durante as análises, com o intuito de resfriar as partes internas da câmara de nebulização do espectrômetro de absorção atômica⁶³, e sua vazão também deve ser estudada para avaliar sua influência na intensidade do sinal analítico. Altas vazões de água no nebulizador podem diminuir a temperatura externa do tubo e prejudicar a atomização do analito.

Esse parâmetro foi avaliado entre 1 e 6 mL min^{-1} e a alteração do sinal analítico ficou entre $5,619 \text{ s}^{-1}$ e $5,342 \text{ s}^{-1}$, aproximadamente, o que corresponde a uma variação de cerca de 5,3%. A vazão de 2 mL min^{-1} foi a que apresentou a maior intensidade do sinal analítico, comparada com a vazão de 6 mL min^{-1} , usada como a condição inicial.

De posse desses resultados, uma curva analítica foi obtida para avaliar se a vazão de 2 mL min^{-1} poderia proporcionar menor limite de detecção ao método, porém, a construção dessa curva analítica, entre 5 e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de prata, mostrou que a menor concentração a ser detectada é de $0,64 \mu\text{g L}^{-1}$, maior do que o limite de detecção obtido na condição inicial. Portanto, a condição de 6 mL min^{-1} de água no nebulizador foi adotada como condição ótima.

f) Avaliação do ácido diluente do analito

Também foi avaliado o meio ácido no qual o analito deve estar. Para isso, estudaram-se quatro tipos de ácidos como meio diluente do analito, são eles: ácido nítrico, sulfúrico, acético e cítrico.

Os perfis de sinal obtidos para cada um desses ácidos estão ilustrados na Figura 11.

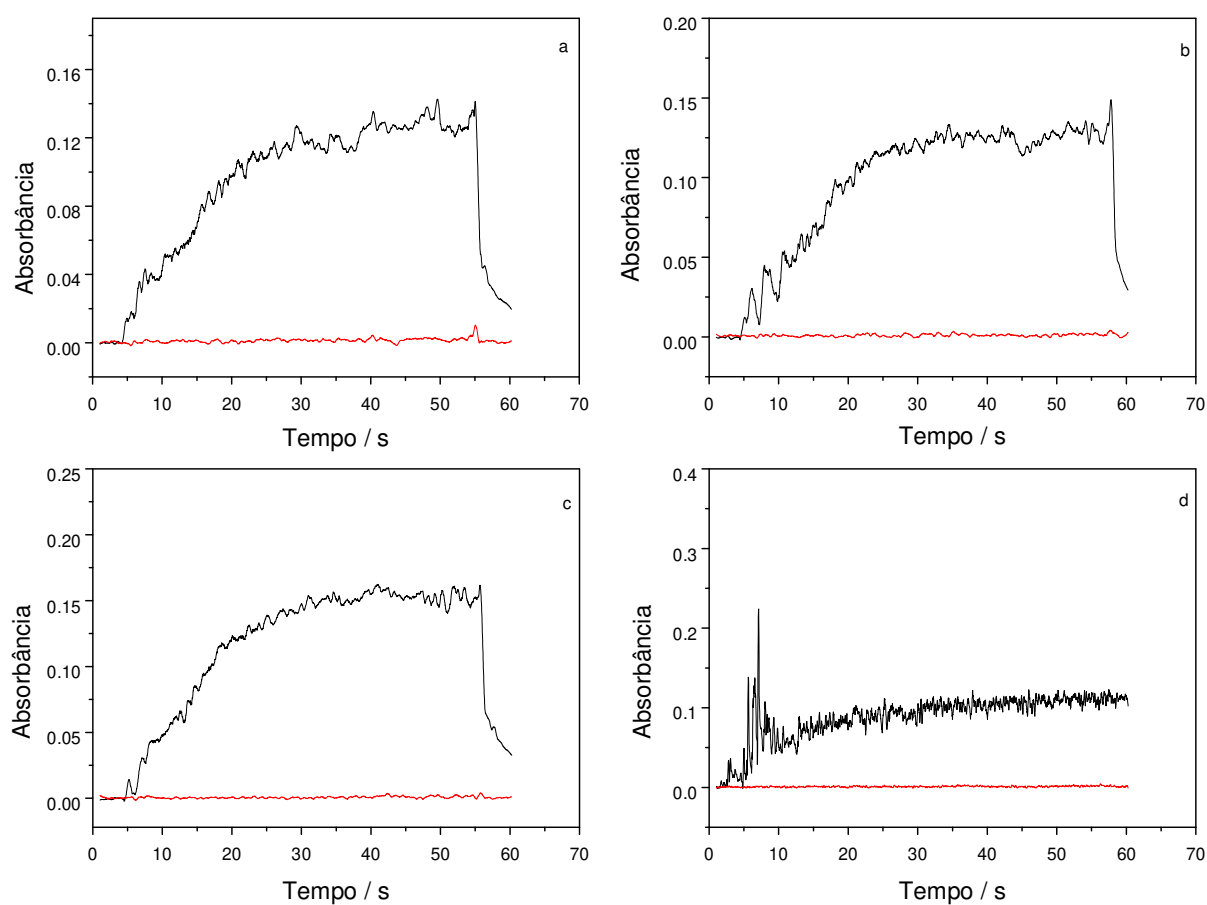


Figura 11. Perfis de sinal obtido para soluções de Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em diferentes ácidos em concentração de 0,2% (v/v ou m/v): (a) ácido acético, (b) ácido cítrico, (c) ácido nítrico e (d) ácido sulfúrico. Condições: chama $1,5 \text{ L min}^{-1}$ acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} , volume injetado $200 \mu\text{L}$ e tubo de Ni 99% com 60 mm^2 de área total dos furos (—AA, —BG)

De acordo com a Figura 11, com exceção do ácido sulfúrico, todos os outros ácidos estudados apresentaram perfis de sinal bastante semelhante e com intensidades próximas, sendo que, quando se utiliza ácido nítrico, a intensidade do sinal analítico é maior ($5,358 \text{ s}^{-1}$) do que para os ácidos cítrico ($4,781 \text{ s}^{-1}$) e acético ($4,523 \text{ s}^{-1}$). Então, pode-se concluir que quando se utiliza meio de ácido nítrico, o analito é mais facilmente volatilizado, facilitando o processo de atomização e aumentando o sinal analítico.

Para o ácido sulfúrico, pode-se perceber que não há retorno do sinal para a linha de base dentro do período de integração utilizado, o que prejudica o perfil do sinal e impossibilita o uso deste ácido como diluente do analito. A baixa intensidade do sinal analítico obtido para este ácido é decorrente da maior energia necessária para evaporar o ácido sulfúrico, quando comparado com o ácido nítrico¹⁷.

g) Avaliação da concentração do ácido diluente do analito

Após escolha do ácido nítrico como melhor ácido diluente do analito (item f), sua concentração foi estudada entre 0,1 e 1% (v/v). A variação do sinal analítico em função da concentração de ácido nítrico está representada na Figura 12, onde se pode perceber um leve aumento do sinal analítico quando a concentração do ácido nítrico aumenta no intervalo de 0,1% a 0,5% (v/v), aumentando a intensidade do sinal de $6,301 \text{ s}^{-1}$ (HNO_3 0,1% (v/v)) para $6,581 \text{ s}^{-1}$ (HNO_3 0,5% (v/v)). Porém, quando a concentração do ácido é elevada para 1% (v/v), o sinal analítico diminui para $5,761 \text{ s}^{-1}$, ou seja, diminui aproximadamente 10% com relação a concentração de 0,2% (v/v).

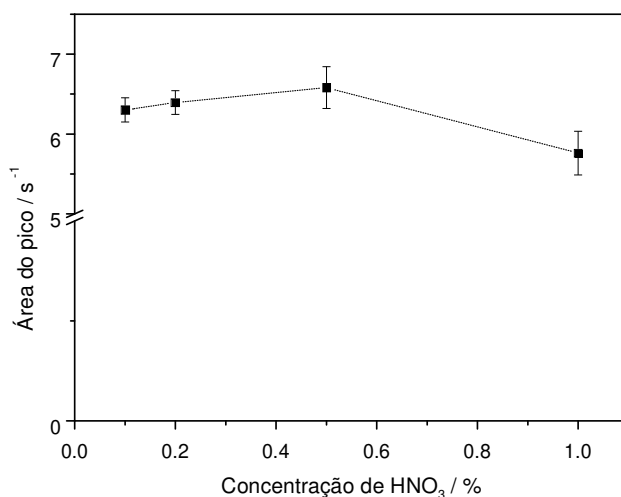


Figura 12. Influência da concentração de ácido nítrico na intensidade do sinal analítico. Condições: solução de Ag $100 \mu\text{g L}^{-1}$, chama $1,5 \text{ L min}^{-1}$ acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, volume injetado: $200 \mu\text{L}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} e tubo de Ni 99,9% com 60 mm^2 de furação total ($n = 3$ para cada condição)

Para verificar o limite de detecção do método utilizando HNO₃ 0,5% (v/v), uma curva analítica foi obtida de 5 a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de detecção calculado foi de $0,72 \mu\text{g L}^{-1}$, maior do que o limite de detecção obtido quando se utiliza HNO₃ 0,2% (v/v) — $0,44 \mu\text{g L}^{-1}$. Sendo assim, a concentração ótima de ácido nítrico foi de 0,2% (v/v).

h) Avaliação do tubo metálico

O tubo metálico é essencial na definição do ambiente químico ao qual o analito está submetido, isto porque sua superfície pode influenciar no processo de atomização.

Tubos metálicos de níquel 99,9% e da liga Inconel® (75% Ni, 15% Cr) foram avaliados com furação entre 0 e 60 mm^2 de área total de furação na parte inferior.

A Figura 13 exemplifica um dos tubos metálicos avaliados. Este estudo foi realizado com solução de prata $25 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2% (v/v).



Figura 13. Foto do tubo metálico indicando os furos na parte inferior, cuja área total é de 40 mm^2 .

Para os tubos confeccionados em níquel, foram avaliados tubos sem furação na parte inferior e com 20 e 60 mm^2 de área total. Para os tubos confeccionados na liga Inconel, foram avaliados tubos sem furação e com 20, 40 e 60 mm^2 de área total. A Figura 14 representa a variação da intensidade do sinal analítico em função da furação total na parte inferior dos tubos confeccionados nos dois materiais.

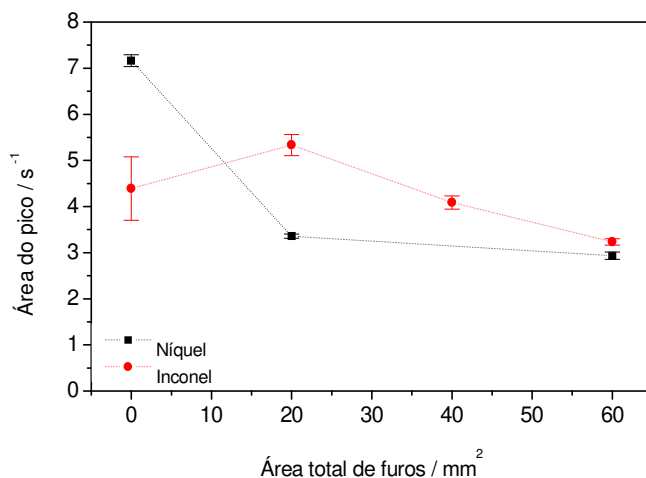


Figura 14. Variação do sinal analítico em função da área de furação dos tubos confeccionados em dois materiais: ■Tubo de Ni ●Tubo Inconel. Condições: solução de Ag $50 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 0,2% (v/v), chama $1,5 \text{ L min}^{-1}$ acetileno: 12 L min^{-1} ar, carregador: ar, vazão do carregador $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de água no nebulizador 6 mL min^{-1} , volume injetado $200 \mu\text{L}$ ($n = 3$ para cada condição).

A partir da Figura 14, pode-se perceber que quanto maior a área total de furação na parte inferior dos tubos, menor a intensidade do sinal analítico. Esses furos permitem a entrada parcial dos gases da chama, sendo assim, quanto maior a área total de furação, maior a quantidade de gases da chama no interior do tubo, alterando o ambiente químico ao qual o analito está submetido, prejudicando o processo de atomização (neste caso) e, portanto, diminuindo a intensidade do sinal analítico de $7,163 \text{ s}^{-1}$ (tubo sem furos) para $2,933 \text{ s}^{-1}$ (60 mm^2), quando os tubos de níquel são utilizados, e de $5,333$ (20 mm^2) para $3,233 \text{ s}^{-1}$ (60 mm^2) para os tubos de Inconel.

Além disso, considerando os tubos com furação na parte inferior, a intensidade do sinal analítico para os tubos confeccionados na liga Inconel é maior do que para os mesmos tubos confeccionados em níquel. Isto pode ocorrer devido ao fato de o analito ser influenciado pelos elementos que estão na superfície do tubo metálico. No caso da liga Inconel, há átomos de cromo na composição da liga, que podem estar presentes em concentração bem menor no tubo de níquel, esse elemento pode formar algum produto indesejado com a prata que não é

facilmente atomizado quando submetido à temperatura da chama. Esta proposta é feita com base nas observações do trabalho de Figueiredo *et. al.*⁶², onde a sensibilidade ao usar tubo de níquel para a determinação de antimônio por geração de hidreto era menor do que ao utilizar tubo da liga Inconel, pois os compostos NiSb_2O_4 e NiSb_2O_6 poderiam ser formados, impedindo o analito de ser atomizado.

Estudos da temperatura na superfície externa dos tubos foram realizados com auxílio de um pirômetro óptico. Foram consideradas quatro posições no tubo para realizar as medidas de temperatura, que são indicadas na Figura 15.

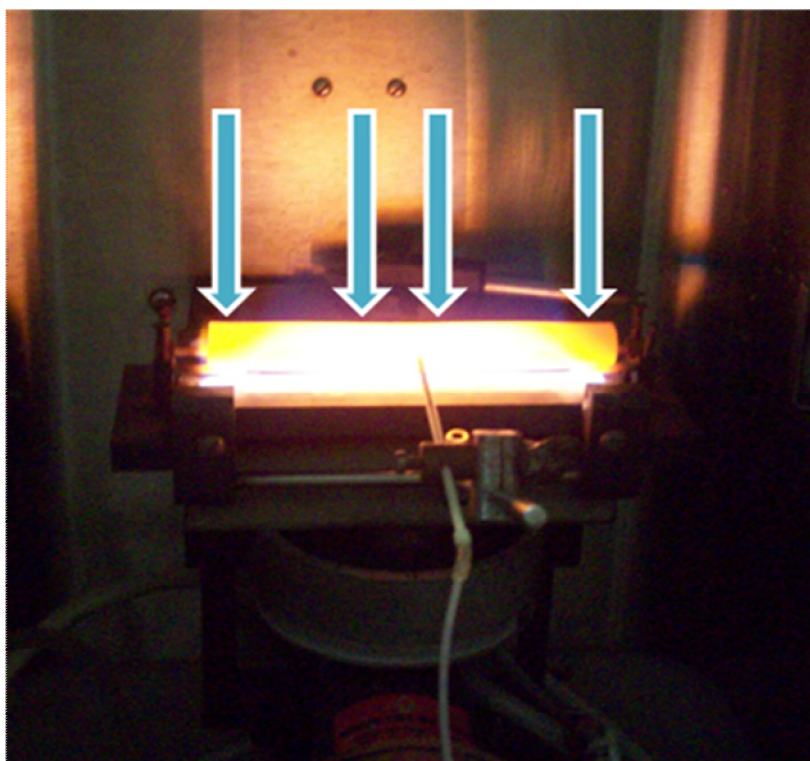


Figura 15. Posições de medidas da temperatura externa do tubo metálico.

Os dados de temperatura estão resumidos na Tabela 5, na qual se pode perceber que os tubos de níquel apresentam temperaturas mais elevadas do que os tubos de Inconel. A maior temperatura dos tubos de níquel também contribui para a atomização do analito e, conseqüentemente, para a maior intensidade do sinal analítico.

Tabela 5. Temperatura média (n=5 para cada posição) dos tubos metálicos utilizados na chama do espectrômetro de absorção atômica.

Furação / mm ²	Temperatura tubo de Níquel / °C	Temperatura tubo de Inconel / °C
0	1053 ± 25	947 ± 55
20	1050 ± 4	-
40	-	947 ± 59
60	1074 ± 53	-

Portanto, o tubo que deve ser utilizado na determinação de prata por espectrometria de absorção atômica com tubo na chama e spray térmico é o tubo de Ni sem furação na parte inferior. Além disso, esse tubo deve permanecer na chama do espectrômetro por 20 minutos antes de ser realizada a primeira injeção da solução, para que ocorra a estabilização da temperatura e, assim, menor dispersão dos sinais analíticos.

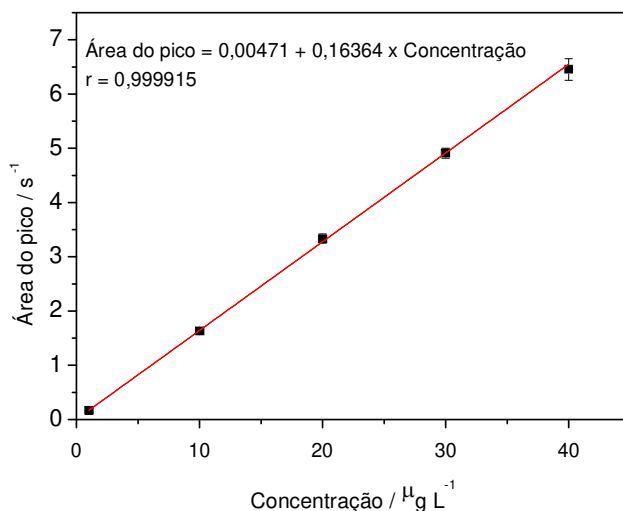
2. Parâmetros Analíticos do Método

Depois de estudados todos os parâmetros envolvidos no método e determinadas as condições ótimas, resumidas na Tabela 6, uma curva analítica foi obtida na faixa de 1 a 40 µg L⁻¹ de prata (Figura 16), para verificar a faixa linear do método.

Tabela 6. Condições ótimas para determinação de Ag por TS-FF-AAS.

Parâmetros Ótimos	
Carregador	Ar
Vazão do carregador	0,4 mL min ⁻¹
Volume da alça de amostragem*	200 µL
Chama (C ₂ H ₂ : ar)	1,5: 12 L min ⁻¹
Vazão de H ₂ O no nebulizador	6 mL min ⁻¹
Ácido diluente do analito	HNO ₃ 0,2% (v/v)
Tubo metálico	Ni 99,9% sem furação

* Em elevada acidez, deve-se utilizar alça de 220 µL.

**Figura 16.** Curva analítica obtida nas condições ótimas (n=3 injeções para cada padrão)

A curva analítica da Figura 16 é representada pela equação $y = 0,164 \cdot x + 0,005$, sendo que y é o sinal analítico em área de pico e x é a concentração de prata em $\mu\text{g L}^{-1}$, com coeficiente de correlação linear 0,99991. Recomenda-se o uso do método em concentrações de até $40 \mu\text{g L}^{-1}$ de prata, pois em concentrações maiores que esta, a intensidade do sinal analítico é muito elevada

e, assim, varias injeções de ácido nítrico 0,2% (v/v) são necessárias para a limpeza da parte interna do tubo.

A partir da curva analítica da Figura 16, também foi possível calcular os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método, de acordo com as normas da IUPAC⁶⁴, onde σ é o desvio padrão de 10 leituras do branco e S é a inclinação da curva analítica. Sendo assim, o limite de detecção obtido com o arranjo experimental proposto é de $0,15 \mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de quantificação é de $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$.

Apesar da faixa linear do método ser de até $40 \mu\text{g L}^{-1}$, a região inicial da curva analítica (até $4 \mu\text{g L}^{-1}$), que melhor se adequava às amostras empregadas devido a concentração de prata esperada, apresenta coeficiente de correlação linear de 0,9943, conforme ilustra a Figura 17.

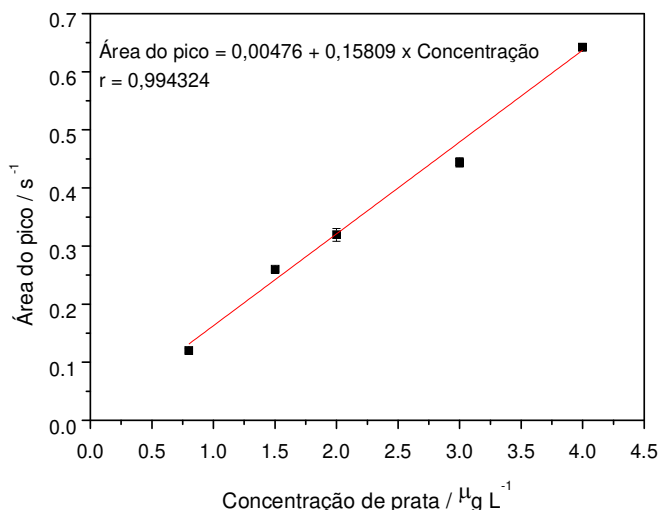


Figura 17. Curva analítica obtida na região de trabalho (n=3 injeções para cada padrão).

A repetitividade do método foi avaliada com solução de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ Ag em HNO_3 0,2% (v/v), e é de 3,43%, como pode ser observado na Tabela 7.

Tabela 7. Resumo dos parâmetros analíticos do método.

LD	0,15 $\mu\text{g L}^{-1}$
LQ	0,50 $\mu\text{g L}^{-1}$
Faixa Linear	0,5 - 40 $\mu\text{g L}^{-1}$
r (0,5 – 4,0 $\mu\text{g L}^{-1}$)	0,9943
r (1,0 – 40,0 $\mu\text{g L}^{-1}$)	0,9999
Repetitividade (n=10 injeções, 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$)	3,43%

3. Estudo dos Concomitantes

Com base nos componentes da matriz dos materiais certificados de referência, onze elementos foram testados como possíveis concomitantes na determinação de prata por espectrometria de absorção atômica com tubo na chama e spray térmico.

Os elementos que proporcionaram recuperação da prata inferior a 90% ou superior a 110% foram considerados interferentes ao analito. A recuperação do analito na presença de cada elemento em diferentes proporções está indicada na Tabela 8.

Observando-se a Tabela, pode-se perceber que alguns elementos, em algumas concentrações, forneceram recuperação do analito superior a 110% ou inferior a 90% e, para esses elementos, um teste *t* foi aplicado. Assim, podem ser considerados interferentes os elementos cromo (nas proporções 1:100 e 1:1000), cobre (na proporção 1:500) , molibdênio e estanho (na proporção 1:100) e manganês (nas proporções 1:100 e 1:2000).

Tabela 8. Recuperação de prata na presença de diversos concomitantes (n=3, 95% de confiança).

Concomitante	Proporção Analito: Concomitante	Recuperação* / %
Be	1:1	98 ± 6
	1:10	96 ± 5
	1:100	97 ± 6
Cd	1:1	97 ± 7
	1:10	99 ± 6
	1:100	100 ± 1
Co	1:1	100 ± 6
	1:10	99 ± 8
	1:100	100 ± 8
Cr	1:1	92 ± 6
	1:10	89 ± 7
	1:100	79 ± 6
	1:1000	67 ± 3
Cu	1:1	93 ± 4
	1:10	91 ± 4
	1:100	91 ± 1
	1:500	88,0 ± 0,3
Li	1:1	95 ± 6
	1:10	97 ± 6
	1:100	98 ± 5
	1:500	100 ± 6
Mn	1:1	101 ± 4
	1:10	110 ± 7
	1:100	110 ± 2
	1:2000	111 ± 4
Mo	1:1	94 ± 6
	1:10	94 ± 6
	1:100	90 ± 6
Pb	1:1	97 ± 8
	1:10	97 ± 3
	1:100	95 ± 5
	1:500	93 ± 4
Sn	1:1	98 ± 6
	1:10	93 ± 8
	1:100	89 ± 6
Zn	1:1	99 ± 9
	1:10	102 ± 8
	1:100	102 ± 3
	1:1000	98 ± 5

*Valor Médio $\pm ts/\sqrt{n}$ (Ref. 64)

4. Avaliação da interação entre algumas variáveis do método

Uma análise da interação entre algumas variáveis do método permitiram avaliar quais condições do método devem ser cuidadosamente controladas. Após a obtenção das áreas integradas (Tabela 9) para a solução de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de prata, a avaliação estatística foi realizada pelo software Statistica Trial Versão 10, considerando um modelo com interação entre 3 variáveis. Assim, com os valores indicados na Tabela 10, é possível concluir que há significância estatística na regressão utilizada, a um nível de 95% de confiança, pois a razão MQ_R/MQ_r (11,46) é maior que o valor de F tabelado (8,89). Porém, a regressão não deve ser utilizada para fins de previsão, porque o F calculado não é 10 vezes maior que o F tabelado⁶⁶.

Tabela 9. Experimentos realizados no ensaio de robustez e respectivos sinais analíticos (em área integrada).

Experimento	Vazão do carregador / mL min^{-1}	Volume injetado / mL	Vazão de ar / L min^{-1}	Vazão de água no nebulizador / mL min^{-1}	Sinal / s^{-1}
1	0,36	180	10,8	5,4	1,640
2	0,44	180	10,8	6,6	1,153
3	0,36	220	10,8	6,6	1,894
4	0,44	220	10,8	5,4	1,587
5	0,36	180	13,2	6,6	1,583
6	0,44	180	13,2	5,4	1,189
7	0,36	220	13,2	5,4	1,861
8	0,44	220	13,2	6,6	1,437
9	0,40	200	12,0	6,0	1,564
10	0,40	200	12,0	6,0	1,399
11	0,40	200	12,0	6,0	1,532

Tabela 10. Tabela de análise de variância para o ajuste de um modelo linear dos parâmetros avaliados no ensaio de robustez.

Fonte de variação	Soma Quadrática (SQ)	Graus de liberdade	Média Quadrática (MQ)	F_{calc}^a	F_{tab}^b
Regressão (R)	0,526	7	0,075	11,46	8,89
Resíduos (r)	0,020	3	0,007		
Falta de ajuste (faj)	0,004	1	0,004	0,57	18,51
Erro puro (ep)	0,015	2	0,008		
Total	0,546	10			

^a F_{calc} = Valor calculado de F

^b F_{tab} = Valor tabelado de F (Ref. 65)

Ainda a partir da Tabela 10, é possível concluir que não há falta de ajuste ao modelo porque a expressão $MQ_{\text{faj}}/MQ_{\text{ep}}$ (0,57) é menor do que o valor de F_{tab} (18,51), em nível de 95% de confiança.

Para este modelo, a porcentagem de variação explicada (SQ_R/SQ_T) é de 96,40% e a variação máxima explicável ($(SQ_T - SQ_{\text{ep}})/SQ_T$) é de 97,19%, o que indica que o modelo utilizado se ajusta adequadamente aos dados obtidos. Para completar, o gráfico da Figura 18 ilustra que as variáveis vazão do carregador e volume de solução injetada são consideradas significativas, entre as 4 variáveis avaliadas, em nível de 95% de confiança, e devem ser cuidadosamente controladas.

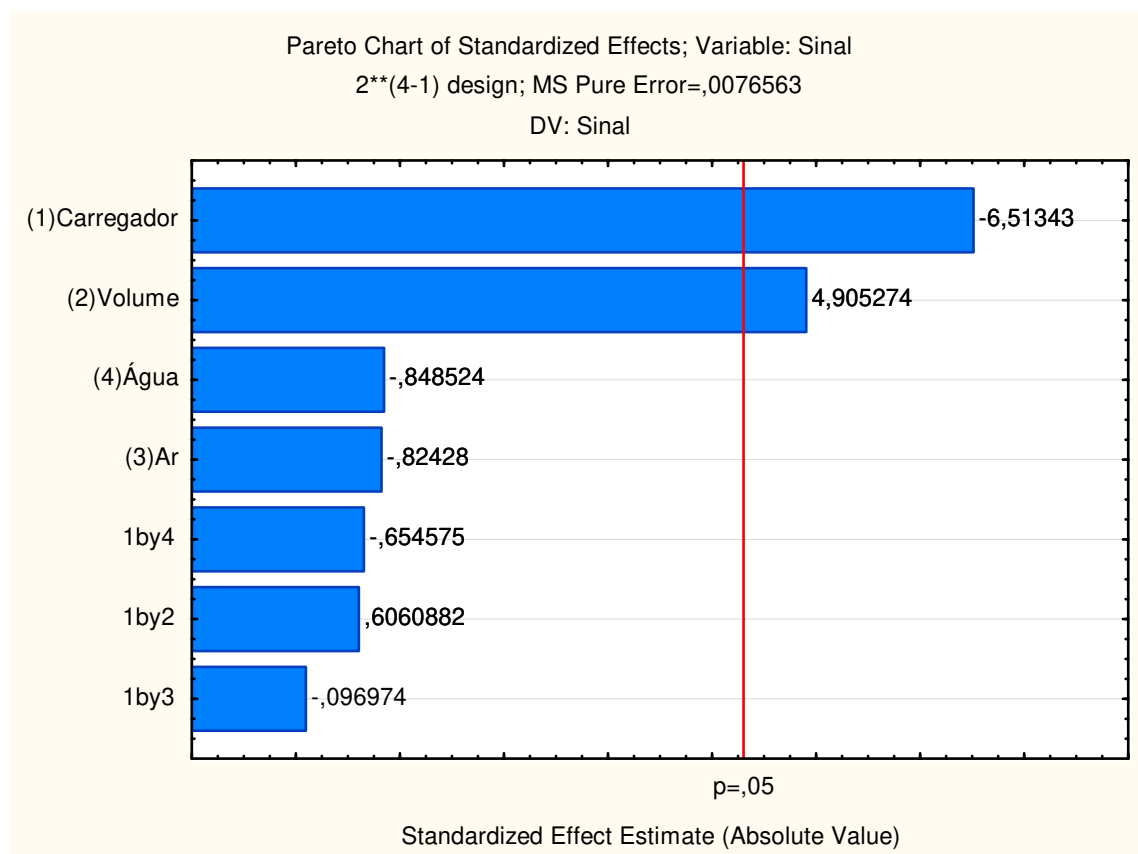


Figura 18. Significância das variáveis consideradas e das interações entre elas no método proposto.

5. Avaliação da exatidão do método

Após determinadas todas as condições experimentais ótimas, as figuras de mérito e os elementos concomitantes, a exatidão foi avaliada com uso de materiais certificados de referência.

O primeiro material utilizado foi o MA-A-2, *Fish Flesh Homogenate*, preparado conforme descrito no item 5.1 (página 21), em triplicata, e 200 μL da solução obtida da decomposição do material foram injetados no interior do tubo metálico. A Tabela 11 compara a concentração de prata obtida com a concentração indicada no material certificado de referência.

O segundo material utilizado foi o SRM 1643e, *Trace Elements in water*, injetado diretamente no sistema proposto para espectrometria de absorção atômica com tubo metálico na chama e spray térmico. Nesse caso, o volume de amostra injetado ($n = 12$) foi de 220 μL , e os padrões utilizados na obtenção da curva foram obtidos a partir da diluição da solução estoque de Ag em ácido nítrico na concentração indicada no material, $0,8 \text{ mol L}^{-1}$, equivalente a 5,5% (v/v).

Tabela 11. Comparação entre a concentração de prata obtida por TS-FF-AAS e a concentração de referência nos materiais certificados.

Material	Concentração de referência ^a	Concentração obtida por TS-FF-AAS ^b
MA-A-2 (n=3)	$0,10 \pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$	$0,094 \pm 0,020 \mu\text{g g}^{-1}$
SRM 1643e (n=12)	$1,062 \pm 0,075 \mu\text{g L}^{-1}$	$1,097 \pm 0,062 \mu\text{g L}^{-1}$

^a Média \pm desvio

^b Média $\pm ts / \sqrt{n}$

A análise estatística pelo teste t de Student permite concluir que não há diferença significativa entre os valores determinados por TS-FF-AAS e a

concentração de referência, ao nível de 95% de confiança. Portanto, comprova-se a exatidão do método.

6. Determinação de prata em amostras não certificadas

✓ Amostras de peixe

Duas amostras de peixe foram analisadas pelo método proposto, sendo uma delas de mapará (*Hipophthalmus spp*) e outra de merluza (*Merluccius spp*). As amostras, obtidas já na forma seca e triturada, foram submetidas ao procedimento de digestão descrito no item 5.1 (página 21).

A quantificação de prata em mapará indica que a concentração deste analito é inferior ao limite de quantificação, ou seja, considerando 200 mg de peixe, a concentração de prata é inferior a $0,025 \mu\text{g g}^{-1}$. O mesmo acontece com a amostra de merluza, na qual a concentração de prata também é inferior ao limite de detecção.

✓ Amostra de ostra

Uma amostra de ostra, obtida já na forma seca e triturada, foi preparada, em triplicata, conforme o procedimento descrito no item 5.1 do Procedimento Experimental (página 21). A concentração de prata encontrada nessa amostra foi de $0,053 \pm 0,003 \mu\text{g g}^{-1}$. A mesma amostra foi também analisada por GFAAS, utilizando temperatura de pirólise de 800°C e de temperatura de atomização de 1700°C , conforme o programa descrito na Tabela 12. Na análise por GFAAS, realizou-se uma primeira injeção de solução padrão com concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$

utilizando solução de Pd+Mg como modificador, porém para as injeções posteriores, utilizou-se somente nitrato de magnésio como modificador por este apresentar menor interferência no sinal analítico.

Tabela 12. Programa de temperatura utilizado na determinação de Ag por GFAAS.

Temperatura / °C	Rampa / s	Permanência / s
110	1	30
130	15	30
800	10	20
1700	0	5
2450	1	3

Assim, a análise por GFAAS forneceu a concentração de prata de $0,054 \pm 0,004 \mu\text{g g}^{-1}$. E a análise estatística utilizando o teste *t* pareado não indicou diferença significativa entre os resultados obtidos com as duas técnicas, em um nível de 95% de confiança.

Conclusões

Com os resultados obtidos nesse trabalho, é possível concluir que a espectrometria de absorção atômica com tubo na chama e spray térmico apresenta-se como uma alternativa vantajosa para a quantificação de prata em baixas concentrações, conforme verificado em amostras ambientais, por ser uma técnica simples, que permite quantificar concentrações a partir de $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$, sem a necessidade de etapas de preconcentração.

Durante a execução deste trabalho, as variáveis envolvidas foram estudadas e as condições ótimas a serem utilizadas foram estabelecidas em: uso de ar a $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ como carregador, injeção de $200 \mu\text{L}$ da solução da amostra em meio de HNO_3 0,2% (v/v) no interior de um tubo de níquel 99,9% sem furação na parte inferior, colocado sobre uma chama oxidante na proporção de $1,5 \text{ L min}^{-1}$ acetileno: 12 L min^{-1} de ar. Esse estudo da determinação das condições ótimas do método permitiu atingir um limite de detecção aproximadamente 20 vezes menor que o inicial, que era de $2,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e passou a $0,15 \mu\text{g L}^{-1}$. O limite obtido possibilita a aplicação do método em águas, com concentrações indicadas na Resolução CONAMA⁵⁰.

Utilizando as condições ótimas do método, os limites de detecção e quantificação, calculados de acordo com a IUPAC são de $0,15 \mu\text{g L}^{-1}$ e de $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$ e permitem a determinação de até $40 \mu\text{g L}^{-1}$ de prata. A quantificação de prata nos materiais certificados de peixe (MA-A-2, Fish Flesh Homogenate) e água (SRM 1643e, Trace Elements in Water) forneceu resultados concordantes com o valor de referência, em nível de 95% de confiança, de acordo com o teste *t* de Student. Além disso, uma amostra de ostra não certificada foi analisada pelo método proposto e pela espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e resultados concordantes foram obtidos em um nível de 95% de confiança, de acordo com o teste *t* pareado.

O planejamento fatorial fracionário, envolvendo quatro variáveis do método permitiu concluir que a vazão do carregador e o volume de solução injetada são fatores que apresentam influência significativa no sinal analítico obtido e devem ser cuidadosamente controladas.

Sendo assim, o método aqui proposto é simples e eficiente, diminui o tempo de análise e as fontes de introdução de erros, por evitar as etapas de preconcentração do analito. Além disso, a TS-FF-AAS é uma técnica de baixo custo, uma vez que, levando-se em conta o preço do tubo, do capilar, suas vidas-útil e outros custos envolvidos, cada determinação tende a custar cerca de R\$ 2,50.

Referências Bibliográficas

1. Greenwood, N. N.; **Chemistry of the elements**. 2ª edição. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1997. 1340 p.
2. Cox, P. A. **The Elements on Earth: Inorganic chemistry in the environment**. Oxford: Oxford University Press, 1995. 287p.
3. <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad44.pdf>, acessado em 17 de janeiro de 2012.
4. Sejmanovic, D. M., Petkovic, B. B., Budimir, M. V., Sovilj, S. P., Jovanovic, V. M.; Characterization of a silver modified PVCAC electrode and its application as a Ag(I)-selective potentiometric sensor. **Electroanalysis**, 23 (2011), 1849 – 1855.
5. Tashkhourian, J., Javadi, S., Ana, F. N.; Anodic stripping voltammetric determination of silver ion at a carbon paste electrode modified with carbon nanotubes. **Microchimica Acta**, 173 (2011), 79—84.
6. Wang, F., Xin, C., Wu, Y., Gao, Y., Ye, B.; Anodic Stripping Voltammetric Determination of Silver(I) in Water Using a 4-tert-Butyl-1(Ethoxycarbonylmethoxy)Thiacalix[4]Arene Modified Glassy Carbon Electrode. **Journal of Analytical Chemistry**, 66 (2011), 60–65.
7. Christou, C. K.; Anthemidis, A. N.; Flow injection on-line displacement/solid phase extraction system coupled with flame atomic absorption spectrometry for selective trace silver determination in water samples. **Talanta**, 78 (2009), 144-149.
8. Ghaedi, M., Shokrollahi, A., Niknam K., Niknam, E., Najibi, A., Soylak, M.; Cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometric determination of cadmium(II), lead(II), palladium(II) and silver(I) in environmental samples. **Journal of Hazardous Materials**, 168 (2009), 1022-1027.
9. Shemirani, F., Kozani, R. R., Assadi, Y.; Development of a cloud point extraction and preconcentration method for silver prior to flame atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, 157 (2007), 81-85.
10. Shampsur, T., Mashhadizadeh, M. H., Sheikhshoaie, I.; Flame atomic absorption spectrometric determination of silver ion after preconcentration on octadecyl silica membrane disk modified with bis[5-((4-nitrophenyl)azosalicylaldehyde)] as a new Schiff base ligand. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 18 (2003), 1407-1410.
11. Manzoori, J. L., Abdolmohammad-Zadeh, H., Amjadi, M.; Ultra-trace determination of silver in water samples by electrothermal atomic absorption

- spectrometry after preconcentration with a ligand-less cloud point extraction methodology. **Journal of Hazardous Materials**, 144 (2007) 458–463.
12. Yang, B., Zhao, L., Sun, H., Ma, H., Meng, L., Ren, N., Qin, J.; Selective Quantification of Trace Silver in Water Samples by Displacement Solidified Floating Organic Drop Microextraction Coupled With Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Spectroscopy Letters**, 44 (2011), 340–346.
 13. Itagaki, T., Ashino, T., Takada, K.; Determination of trace amounts of gold and silver in high-purity iron and steel by electrothermal atomic absorption spectrometry after reductive coprecipitation. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, 368 (2000), 344–349.
 14. Rahman, M. A., Kaneco, S., Amin, M. N., Suzuki, T., Ohta, K.; Determination of silver in environmental samples by tungsten wire preconcentration method–electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 62 (2004), 1047–1050.
 15. Dittert, I. M., Borges, D. L. G., Welz, B., Curtius, A. J., Becker-Ross, H.; Determination of silver in geological samples using high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry and direct solid sampling. **Microchimica Acta**, 167 (2009), 21–26.
 16. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; **Princípios de Análise Instrumental**, 5. ed. Porto Alegre, RS: Bookman, 2002. 836 p.
 17. Welz, B., Sperling, M.; **Atomic Absorption Spectrometry**. 3 ed., rev. Weinheim; New York, N.Y.: Wiley-VCH, 1999. 941 p.
 18. Gao, Y., Wu, P., Li, W., Xuan, Y., Hou, X.; Simultaneous and selective preconcentration of trace Cu and Ag by one-step displacement cloud point extraction for F AAS determination. **Talanta**, 81 (2010), 586–590.
 19. Dadfarnia, S., Shabani A. M. H., Gohari, M.; Trace enrichment and determination of silver by immobilized DDTC microcolumn and flow injection atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 64 (2004), 682–687.
 20. Gáspár, A., Berndt, H.; Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) – a simple method for trace element determination with microsamples in the $\mu\text{g/l}$ concentration range. **Spectrochimica Acta Part B**, 55 (2000), 587–597.
 21. Arruda, M. A. Z., Figueiredo, E. C.; Atomic spectrometry based on metallic tube atomizers heated by flame: Innovative strategies from Fundamentals to analysis. **Spectrochimica Acta Part B**, 64 (2009), 477–481.
 22. Wu, P., He, S., Luo, B., Hou, X.; Flame furnace atomic absorption spectrometry: a review. **Applied Spectroscopy Reviews**, 44 (2009), 411–437.

23. Dedina, J.; Atomization of volatile compounds for atomic absorption and atomic fluorescence spectrometry: On the way towards the ideal atomizer. **Spectrochimica Acta Part B**, 62 (2007), 846–872.
24. Gáspár, A., Berndt, H.; Beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry: a new flame method. **Analytical Chemistry**, 72 (2000), 240-246.
25. Gáspár, A., Berndt, H.; Beam-injection flame-furnace atomic-absorption spectrometry (BIFF-AAS) with low-pressure sample jet generation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 372 (2002), 695-699.
26. Davies, J., Berndt, H.; Improvements in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 479 (2003), 215-223.
27. Gáspár, A., Széles, E., Berndt, H.; Analysis of submicroliter samples using micro thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 372 (2002), 136-140.
28. Brancalion, M. L., Sabadini, E., Arruda, M. A. Z.; Description of the thermospray formed at low flow rate in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry based on high-speed images. **Analytical Chemistry**, 79 (2007), 6527-6533.
29. Brancalion, M. L., Sabadini, E., Arruda, M. A. Z.; Thermospray nebulization for flame furnace atomic absorption spectrometry – Correlations between spray formation and cadmium analytical sensitivity. **Spectrochimica Acta Part B**, 64 (2009), 89-94.
30. Petrucelli, G. A., Poppi, R. J., Mincato, R. L., Pereira-Filho, E. R.; TS-FF-AAS and multivariate calibration: A proposition for sewage sludge slurry sample analyses. **Talanta**, 71 (2007), 620-626.
31. Brancalion, M. L., Arruda, M. A. Z.; Evaluation of medicinal plant decomposition efficiency using microwave ovens and mini-vials for Cd determination by TS-FF-AAS. **Microchimica Acta**, 150 (2005), 283-290.
32. Tarley, C. R. T., Arruda, M. A. Z.; A sensitive method for cadmium determination using an on-line polyurethane foam preconcentration system and thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Sciences**, 20 (2004), 961-966.
33. Coelho, L. M., Bezerra, M. A., Arruda, M. A. Z., Bruns, R. E., Ferreira, S. L. C.; Determination of Cd, Cu and Pb after cloud point extraction using multielemental sequential determination by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS). **Separation Science and Technology**, 43 (2008), 815-827.
34. Matos, G. D., Arruda, M. A. Z.; Online preconcentration/determination of cadmium using grape bagasse in a flow system coupled to thermospray

- flame furnace atomic absorption spectrometry. **Spectroscopy Letters**, 39 (2006), 755-768.
35. Sepúlveda, E. G., Fuentes, A. A., Hinojosa, J. N.; Preconcentración y atomización com tubo em la llama para la determinación de cádmio em água de mar. **Química Nova**, 34 (2011), 700-703.
36. Pereira-Filho, E.R., Berndt, H., Arruda, M. A. Z.; Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 17 (2002), 1308-1315.
37. Wu, P., Zhang, Y., Lv, Y., Hou, X.; Cloud point extraction-thermospray flame quartz furnace atomic absorption spectrometry for determination of ultratrace cadmium in water and urine. **Spectrochimica Acta Part B**, 61 (2006), 1310-1314.
38. Lemos, V. A., Bezerra, M. A., Amorim, F. A.C.; On-line preconcentration using a resin functionalized with 3,4-dihydroxybenzoic acid for the determination of trace elements in biological samples by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, 157 (2008), 613-619.
39. Rezende, H. C., Nascentes, C. C., Coelho, N. M. M.; Cloud point extraction for determination of cadmium in soft drinks by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, 97 (2011), 118-121.
40. Miranda, K., Dionísio, A. G. G., Neto, O. D. P., Gomes, M. S., Pereira-Filho, E. R.; Determination of Cd levels in smoke condensate of Brazilian and Paraguayan cigarettes by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS). **Microchemical Journal**, 100 (2012), 27-30.
41. Nascentes, C. C., Kamogawa, M. Y., Fernandes, K. G., Arruda, M. A. Z., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A.; Direct determination of Cu, Mn, Pb and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 60 (2005), 749-753.
42. Gomes, M. S., Pereira-Filho, E. R.; Ti and Ni tubes combined in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) for the determination of copper in biological samples. **Microchemical Journal**, 93 (2009), 93-98.
43. Nascentes, C. C., Arruda, M. A. Z., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A.; Direct determination of Cu and Zn in fruit juices and bovine Milk by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 64 (2004), 912-917.

44. Tarley, C. R. T., Arruda, M. A. Z.; Online coupling of a flow injection system to TS-FF-AAS for preconcentration and determination of lead in water and vegetables. **Analytical Letters**, 38 (2005), 1427-1443.
45. Matos, G. D., Arruda, M. A. Z.; Improvements in cobalt determination by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry using an on-line derivatization strategy. **Talanta**, 76 (2008), 475-478.
46. Bezerra, M. A., Lemos, V. A., Garcia, J. S., Silva, D. G. da, Araújo, A. S., Arruda, M. A. Z.; Thermospray generation directly into a flame furnace – An alternative to improve the detection power in atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 82 (2010), 437-443.
47. Purcell, T. W., Peters, J. J.; Sources of silver in the environment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 17 (1998), 539-546.
48. Wood, C. M., Playle, R. C., Hogstrand, C.; Physiology and modeling of mechanisms of silver uptake and toxicity in fish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 18 (1999), 71-83.
49. Hogstrand, C., Wood, C. M.; Toward a better understanding of the bioavailability, physiology and toxicity of silver in fish: implications for water quality criteria. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 17 (1998), 547-561.
50. <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>, acessado em 21 de março de 2012.
51. http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/silver.pdf, acessado em 17 de janeiro de 2012.
52. Chaloupa, K., Malam, Y., Seifalian. A. M.; Nanosilver as a new generation of nanoprodukt in biomedical applications. **Trends in Biotechnology**, 28 (2010), 580-588.
53. Durán, N., Marcato, P. D., Conti, R. de, Alves, O. A., Costa, F. T. M., Brocchi, M.; Potencial use of silver nanoparticle on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 21 (2010), 949-959.
54. Marambio-Jones, C., Hoek, E. M. V.; A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. **Journal of Nanoparticle Research**, 12 (2010), 1531-1551.
55. Kalishwaralal, K., BarathManiKanth, S., Pandian, S. R. K., Deepak, V., Gurunathan, S.; Silver nano – A trove for retinal therapies. **Journal of Controlled Release**, 145 (2010), 76-90.

56. Sharma, V. K., Yngard, R. A.; Lin, Y.; Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. **Advances in Colloid and Interface Science**, 145 (2009), 83-96.
57. Som, C., Wick, P., Krug, H., Nowack, B.; Environmental and health effects of nanomaterials in nanotextiles and façade coatings. **Environment International**, 37 (2011), 1131-1142.
58. Nowack, B., Krug, H. F., Height, M.; 120 Years of nanosilver history: implications for policy makers. **Environmental and Science Technology**, 45 (2011), 1177-1183.
59. Yu, H. M., Sun, W., Chen, M. L., Tian, Y., Wang, J. H.; Carbon nanotubes-loaded sílica gel for preconcentration of trace silver with detection by flame atomic absorption spectrometry. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 38 (2010), 1721-1726.
60. Kalberg, B., Pacey, G. E.. **Flow Injection Analysis – A practical guide**. Amsterdam: Elsevier, 1989. 372p.
61. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.. **Flow Injection Analysis**. New York, N.Y.: J. Wiley, 1981. 207 p.
62. Figueiredo, E. C., Dedina, J., Arruda, M. A. Z.; Metal furnace heated by flame as a hydride atomizer for atomic absorption spectrometry: Sb determination in environmental and pharmaceutical samples. **Talanta**, 73 (2007), 621-628.
63. Klassen, A. Avaliação de tubo metálico como atomizador na técnica de HG-AAS: Análise de parâmetros analíticos e morfológicos. 2007. Dissertação de mestrado – Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2007.
64. Inczédy, J.; Lengyel, T.; Ure, A. M.; Compendium of Analytical Nomenclature: Definitive Rules, 1997, IUPAC. Disponível em: http://old.iupac.org/publications/analytical_compendium/, acessado em 07 de fevereiro de 2012.
65. Miller, J. C.; Miller, J. N.. **Statistics for Analytical Chemistry**. 3th. ed. London; New York, N.Y.: Ellis Horwood: Prentice Hall, 1993. 233p.
66. Neto, B. B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E.; Como fazer experimentos – Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. Livro Texto, 2001.