



Universidade Federal de Uberlândia  
Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

---

Extração Seletiva de As(III) por Ponto Nuvem e Determinação de Arsênio Total em Sedimentos de Região de Mineração Empregando Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidreto por Injeção em Fluxo

---

*Henrique de Paula Rezende*

---

Uberlândia  
2017



**Extração Seletiva de As(III) por Ponto Nuvem e Determinação de Arsênio Total em Sedimentos de Região de Mineração Empregando Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidreto por Injeção em Fluxo**

**Henrique de Paula Rezende**

***Orientadora: Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

**Uberlândia  
Julho de 2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

R467e Rezende, Henrique de Paula, 1988-  
2017

Extração seletiva de AS(III) por ponto nuvem e determinação de arsênio total em sedimentos de região de mineração empregando espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto por injeção em fluxo / Henrique de Paula Rezende. - 2017.

113 f. : il.

Orientadora: Nívia Maria Melo Coelho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Degradação ambiental - Teses. 3. Impacto ambiental - Teses. 4. Meio Ambiente - Efeitos químicos - Teses. I. Coelho, Nívia Maria Melo. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em  
Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia  
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 263/PPQUI.

DATA: 28/07/2017

DISCENTE: Henrique de Paula Rezende

MATRÍCULA: 11522QMI005

TÍTULO DO TRABALHO: Especiação de arsênio inorgânico em sedimentos de região de mineração empregando espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto por injeção em fluxo e extração seletiva por ponto nuvem.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada e Química Ambiental

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Estratégicas analíticas para especiação química.

Às quatorze horas do dia vinte e oito de julho do ano dois mil e dezessete, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, do Bloco 5I, no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Hélen Cristine de Rezende, da Universidade Federal de Goiás, Alam Gustavo Trovó e Nívia Maria Melo Coelho, da Universidade Federal de Uberlândia, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em seqüência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e Aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será "Extração seletiva de As(III) por ponto nuvem e determinação de arsênio total em sedimentos de região de mineração empregando espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto por injeção em fluxo."

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 30 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Hélen Cristine de Rezende

Profª Dra. Hélen Cristine de Rezende

UFG

Alam Gustavo Trovó

Prof. Dr. Alam Gustavo Trovó

UFU

Orientador(a): Profª Dra. Nívia Maria Melo Coelho – IQUFU



*Dedico este trabalho, com muito amor e carinho, aos meus pais Hideraldo (in memorian) e Marlene, que sempre me fizeram acreditar na realização dos meus sonhos e trabalharam muito para que eu pudesse realizá-los. À minha irmã Tatiane e ao meu sobrinho Miguel.*



# AGRADECIMENTOS

---

---

“A gratidão é a maior medida do caráter de uma pessoa. Uma pessoa grata é uma pessoa fiel, não te abandona, está sempre contigo. Nela você sempre pode confiar.”  
(Augusto Branco)

Primeiramente à Deus pelo dom da vida, pela minha família e por mais essa conquista.

À minha família, principalmente àqueles que com carinho me incentivaram, apoiam e acreditaram em mim.

À minha orientadora Profª. Drª. Nívia Maria Melo Coelho pela oportunidade de trabalho, ensinamentos, incentivos e amizade ao longo desse período.

Ao professor Dr. Joselito Nardy Ribeiro, da Universidade Federal do Espírito Santo, por fornecer as amostras de sedimento.

Aos meus amigos do Laboratório de Espectroscopia Aplicada, por todo companheirismo, pela convivência, pelos momentos de alegria e tristeza e pela contribuição na realização deste trabalho, especialmente ao Bruno pelo acompanhamento, discussões e contribuições.

Aos meus amigos que a amizade se faz sempre presente e que são essenciais para minhas conquistas, obrigado pelos conselhos, incentivos e companheirismo.

À CAPES, pela bolsa de mestrado.

Ao Instituto de Química da UFU pela estrutura concedida.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.



*“Um homem precisa viajar. Por sua conta, não por meio de histórias, imagens, livros ou TV. Precisa viajar por si, com seus olhos e pés, para entender o que é seu. Para um dia plantar as suas próprias árvores e dar-lhes valor. Conhecer o frio para desfrutar o calor. E o oposto. Sentir a distância e o desabrigado para estar bem sob o próprio teto. Um homem precisa viajar para lugares que não conhece para quebrar essa arrogância que nos faz ver o mundo como o imaginamos, e não simplesmente como é ou pode ser. Que nos faz professores e doutores do que não vimos, quando deveríamos ser alunos, e simplesmente ir ver.”*

*(Amyr Klink)*



## RESUMO

Uma das questões indiscutivelmente preocupante é o impacto a que os recursos hídricos brasileiros vêm sendo submetidos. Dentre os diversos impactos que comprometem os usos múltiplos e aumentam as pressões econômicas regionais e locais sobre os recursos hídricos destaca-se a mineração. Esta atividade é responsável pela entrada de quantidades expressivas de elementos tóxicos nas águas superficiais, afetando negativamente a qualidade dos sedimentos. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um procedimento para determinação de arsênio inorgânico em amostras de sedimentos obtidas em diferentes pontos da região do Rio Doce (Espírito Santo). Para tal objetivo, foi empregada a espectrometria de absorção atômica com chama e geração de hidreto por análise em fluxo após a extração por ponto nuvem (CPE-FIA-HG FAAS). O pH da fase aquosa influencia diretamente na extração do complexo e o estudo deste parâmetro indicou que melhor resposta é obtida em valor de pH igual a 1,8. Após a definição deste parâmetro, a concentração das variáveis que influenciam na formação do ponto nuvem foram otimizadas por análise multivariada através do planejamento fatorial completo e utilizando metodologia da superfície de resposta. As variáveis avaliadas foram as concentrações de Pirrolidina Ditiocarbamato de Amônio (APDC) como agente complexante, Triton X-114 como surfactante não-iônico para formação das micelas e NaCl como eletrólito para induzir a formação do ponto nuvem sem a necessidade de aquecimento. A concentração de antiespumante foi avaliada neste estudo juntamente com as variáveis do ponto nuvem, pois sua concentração é diretamente proporcional à concentração de surfactante. A melhor resposta para a formação do ponto nuvem foi obtida nas seguintes condições: APDC (0,70% m/v), Triton X-114 (0,21% m/v) e NaCl (0,52% m/v). A concentração de antiespumante suficiente para evitar a formação de espuma no separador gás líquido foi de 2,3% m/v. Após definição dos parâmetros relacionados à formação do ponto nuvem, foi realizado o estudo de otimização das variáveis no sistema de geração de hidreto por injeção em fluxo. As melhores respostas foram obtidas utilizando NaBH<sub>4</sub> na concentração de 0,50% m/v para reduzir o As(III) ao seu hidreto correspondente, HCl 1,3 mol.L<sup>-1</sup> para a reação da hidrólise ácida do NaBH<sub>4</sub>, comprimento da bobina de reação de 30 cm, vazão da amostra e reagentes iguais a 4 mL.min<sup>-1</sup>, volume de injeção da amostra e NaBH<sub>4</sub> iguais a 0,33 ml e volume de HCl igual 0,36 mL. A partir das condições otimizadas, o procedimento mostrou ser seletivo para a espécie de As(III) apresentando limites de determinação e quantificação, respectivamente, iguais a 0,052 e 0,17 µg.L<sup>-1</sup>, com desvio padrão relativo (DPR) de 3,4% para n=10 e um fator de pré-concentração igual a 55. Valores de recuperação foram obtidos entre 90 - 103% para amostras fortificadas. A avaliação dos íons interferentes, mostra que os íons Hg(II), Fe(III) e Cu(II) interferem na determinação de As(III) nas condições experimentais utilizadas e para minimizar o efeito de interferência foi utilizado EDTA 0,1 mol.L<sup>-1</sup>. O procedimento apresentado mostrou ser rápido e eficiente para a pré-concentração e determinação de As(III).

por CPE-FIA-HG FAAS, podendo ser utilizado na especiação de arsênio inorgânico utilizando tioureia 0,50% m/v na pré-redução de As(V) a As(III).

**Palavras-chave:** CPE, extração seletiva de As(III), ambiental, análise multivariada.

# ABSTRACT

One of the indisputably worrying issues is the impact to Brazilian water resources. Among many impacts that compromise multiple uses and increase regional and local economic pressures on water resources, mining stands out. This activity is responsible for the significant entrance of toxic elements into surface waters, which negatively affects the quality of the sediments. The goal of this work was to develop a method for determination of inorganic arsenic in sediments samples obtained at different points in the Rio Doce region (Espírito Santo, Brazil). For this purpose, flame atomic absorption spectrometry and hydride generation by flow injection were employed after cloud point extraction (CPE-FIA-HG FAAS). The pH of the aqueous phase directly influences the extraction of the complex and studying this parameter indicated that the best response is obtained in the pH value equals to 1.8. After defining this parameter, the concentrations of the variables that influence the cloud point formation were optimized by multivariate analysis through the complete factorial planning and using response surface methodology. The evaluated variables were the concentration of Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate (APDC) as a complexing agent, Triton X-114 as a non-ionic surfactant for the formation of micelles, and NaCl as electrolyte to induce the cloud point formation without the need for heating. The concentration of antifoam was evaluated in this study together with the cloud point variables, because its concentration is directly proportional to surfactant concentration. The best response for cloud point formation was obtained under the following conditions: APDC (0.70% w/v), Triton X-114 (0.21% w/v), and NaCl (0.52% w/v). The concentration of antifoam sufficient to prevent foaming in the liquid gas separator was 2.3% w/v. After defining the parameters related to the cloud point formation, a study for optimizing the variables of the hydride generation system by flow injection was carried out. The best responses were obtained using NaBH<sub>4</sub> at the concentration of 0.50% w/v to reduce As(III) to its corresponding hydride, HCl 1.3 mol.L<sup>-1</sup> for the acid hydrolysis reaction of NaBH<sub>4</sub>, a 30 cm reaction coil length, sample flow and reagents equal to 4 mL.min<sup>-1</sup>, sample injection volume and NaBH<sub>4</sub> equal to 0.33 ml, and volume of HCl equals to 0.36 ml. From the optimized conditions, the method showed to be selective for the As(III) species presenting determination and quantification limits equal to 0,052 e 0,17 µg.L<sup>-1</sup>, respectively, with relative standard deviation (RSD) of 3.4% for n=10 and a preconcentration factor of 55. Recovery values were obtained between 90 - 103% for fortified samples. The evaluation of the interfering ions shows that Hg(II), Fe(III) and Cu(II) ions interfere in the determination of As(III) under the used experimental conditions, however, EDTA 0.1 mol.L<sup>-1</sup> was used to minimize the interference effect. The procedure showed to be fast and efficient for preconcentration and determination of As(III) by CPE-FIA-HG FAAS, which can be used for inorganic arsenic speciation using 0.50% w/v thiourea in the pre-reduction of As(V) to As(III).

**Key-words:** CPE, selective extraction of As(III), environmental, multivariate analysis.



# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

---

---

Figura 1 – Cinco maiores acidentes mundiais com barragens representados por: (a) volume de resíduo gerado em milhões de $m^3$ e (b) distância percorrida em Km.	26
Figura 2 – Ciclo biogeoquímico do arsênio.	28
Figura 3 – Processo de biometilação do arsênio.	30
Figura 4 – Principais espécies de arsênio biodisponíveis no ambiente.	31
Figura 5 – Mapa da Bacia Hidrográfica do Rio Doce.	34
Figura 6 – Representação de um sistema FIA.	44
Figura 7 – Estrutura do surfactante Triton X-114.	46
Figura 8 – Formação do agregado micelar.	46
Figura 9 – Possíveis interações entre o analito e a micela de surfactante.	47
Figura 10 – Etapas de formação do ponto nuvem.	56
Figura 11 – Sistema de análise em fluxo.	57
Figura 12 – Acessórios utilizados no sistema em fluxo e geração de hidreto.	58
Figura 13 – Representação do procedimento para extração do complexo por ponto nuvem.	59
Figura 14 – Estudo do modo de injeção no sistema FIA.	68
Figura 15 – Estudo da influência do pH na formação do complexo, ( $n=3$ ).	69
Figura 16 – Complexo formado entre As(III) e o complexante APDC.	70
Figura 17 – Distribuição das espécies de APDC em função do pH.	70
Figura 18 – Distribuição das espécies de As(III) em função do pH.	71
Figura 19 – Gráfico de Pareto gerado no planejamento fatorial $2^4$ .	74
Figura 20 – Representação geométrica do planejamento composto central com ponto estrela.	76
Figura 21 – Superfície de resposta da combinação das concentrações de APDC e antiespumante.	78
Figura 22 – Simulação do comportamento das concentrações de antiespumante e APDC no simplex modificado.	79
Figura 23 – Estudo da concentração de $\text{NaBH}_4$ na determinação de As(III).	81
Figura 24 – Estudo da concentração de HCl na determinação de As(III).	82
Figura 25 – Efeito do comprimento da bobina de reação na determinação de As(III).	83
Figura 26 – Estudo da vazão da amostra e redutor.	84
Figura 27 – Estudo da vazão do ácido.	85
Figura 28 – Superfície de resposta do tempo de abertura das válvulas.	87
Figura 29 – Verificação da seletividade do método proposto.	89
Figura 30 – Curva analítica de calibração do As(III) com pré-concentração.	92

Figura 31 – Curva analítica de calibração do As(III) sem pré-concentração. . . . .	92
Figura 32 – Estudo de pré-redutores para As(V) . . . . .	93

# **LISTA DE TABELAS**

---

---

Tabela 1 – Comparação entre FAAS e GF AAS. . . . .	39
Tabela 2 – Surfactantes de uso comum em Química Analítica. . . . .	45
Tabela 3 – Parâmetros instrumentais para a determinação de As. . . . .	53
Tabela 4 – Referenciais de localização dos pontos de coleta. . . . .	56
Tabela 5 – Etapas para operação do modo de injeção sequencial. . . . .	58
Tabela 6 – Etapas para operação do modo de injeção simultânea. . . . .	58
Tabela 7 – Condições experimentais no estudo do pH. . . . .	59
Tabela 8 – Matriz do planejamento fatorial $2^4$ completo para extração por ponto nuvem (n=3). . . . .	61
Tabela 9 – Matriz do CCD com ponto estrela para extração por ponto nuvem (n=3). . . . .	62
Tabela 10 – Matriz do CCD com ponto estrela para avaliação do volume da amostra e reagentes (n=3). . . . .	64
Tabela 11 – Programa de digestão das amostras em forno de microondas . . . . .	66
Tabela 12 – Estudo do modo de injeção no sistema FIA. . . . .	68
Tabela 13 – Resultado do planejamento fatorial $2^4$ para estudo da extração e pré-concentração por ponto nuvem (n=3). . . . .	73
Tabela 14 – ANOVA para o planejamento fatorial $2^4$ no estudo da extração e pré-concentração por ponto nuvem. . . . .	73
Tabela 15 – CCD com ponto estrela (n=3). . . . .	77
Tabela 16 – ANOVA para o CCD tipo estrela no estudo da extração e pré-concentração por ponto nuvem. . . . .	77
Tabela 17 – Experimentos realizados para definição do ponto ótimo. . . . .	80
Tabela 18 – Valores otimizados para as variáveis no procedimento por ponto nuvem. . . . .	80
Tabela 19 – CCD com ponto estrela para estudo do volume da amostra e reagente (n=3). . . . .	86
Tabela 20 – ANOVA para o CCD tipo estrela no estudo do volume de injeção da amostra e reagentes. . . . .	86
Tabela 21 – Valores otimizados para as variáveis no sistema de geração de hidreto por análise em fluxo. . . . .	88
Tabela 22 – Estudo de íons interferentes na determinação de As (III) . . . . .	89
Tabela 23 – Avaliação de EDTA como mascarante. . . . .	91
Tabela 24 – Figuras de mérito . . . . .	92
Tabela 25 – Resultado da determinação de arsênio nas amostras de sedimento da Bacia Hidrográfica do Rio Doce. . . . .	94

Tabela 26 – Comparaçāo dos mētodos publicados e o mētodo deste trabalho . . . . . 95

# **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

---

---

- AAS ..... Espectrometria de Absorção Atômica, do inglês, *Atomic Absorption Spectroscopy*
- AFS ..... Espectrometria de Fluorescência Atômica, do inglês, *Atomic Fluorescence Spectroscopy*
- APDC .... Pirrolidina Ditiocarbamato de Amônio
- As<sub>t</sub> ..... Arsênio total
- AsB ..... Arsenobetaína
- AsC ..... Arsenocolina
- CCD ..... *Central Composite Design*
- CE ..... Eletroforese Capilar, do inglês, *Capillary Electrophoresis*
- CG ..... Cromatografia Gasosa, do inglês, *Gas Chromatography*
- CMC ..... Concentração Micelar Crítica
- CPE ..... Extração por Ponto Nuvem, do inglês, *Cloud Point Extraction*
- DMA ..... Dimetilarsínico
- DPR ..... Desvio Padrão Relativo
- F AAS ... Espectrometria de Absorção Atômica com Chama, do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectroscopy*
- FIA ..... Análise por Injeção em Fluxo, do inglês, *Flow Injection Analysis*
- GF AAS .. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite, do inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy*
- HG ..... Geração de Hidreto, do inglês, *Hydride Generation*
- HG AAS . Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos, do inglês, *Hydride Generation Atomic Absorption Spectroscopy*
- ICP OES . Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*
- ICP-MS .. Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*
- LA ..... Ablação por Laser, do inglês, *Laser Ablation*
- LTGC .... Cromatografia Gasosa a Baixa Temperatura, do inglês, *Low Temperature Gas Chromatography*
- MMA .... Monometilarsônico
- RP-HPLC Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Fase Reversa, do inglês, *Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography*

rpm ..... rotações por minuto

TMAO .... Óxidos de Tetrametilarsônio

# SUMÁRIO

---

---

1	<b>INTRODUÇÃO</b>	23
2	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	27
2.1	<b>Arsênio</b>	27
2.2	<b>Determinação de Arsênio Total e Especiação</b>	31
2.3	<b>Sedimentos</b>	33
2.4	<b>Bacia hidrográfica do Rio Doce</b>	33
2.5	<b>Técnicas de separação e detecção</b>	35
2.5.1	<b>Técnicas de separação</b>	35
2.5.1.1	<i>Cromatografia a gás</i>	35
2.5.1.2	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência com fase reversa</i>	36
2.5.1.3	<i>Cromatografia por exclusão</i>	37
2.5.1.4	<i>Eletroforese capilar</i>	38
2.5.2	<b>Técnicas de detecção</b>	38
2.5.2.1	<i>Espectrometria de absorção atômica</i>	38
2.5.2.2	<i>Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado</i>	40
2.5.2.3	<i>Espectrometria de massa</i>	40
2.5.2.4	<i>Espectrofotometria de Absorção Molecular</i>	41
2.5.2.5	<i>Voltametria de redissolução</i>	41
2.6	<b>Geração de hidreto em espectrometria de absorção atômica</b>	42
2.7	<b>Análise por injeção em fluxo</b>	43
2.8	<b>Extração e pré-concentração por ponto nuvem</b>	44
2.9	<b>Procedimentos de otimização em química</b>	47
3	<b>OBJETIVOS</b>	51
3.1	<b>Geral</b>	51
3.2	<b>Específicos</b>	51
4	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	53
4.1	<b>Equipamentos e acessórios</b>	53
4.2	<b>Reagentes e soluções</b>	54
4.3	<b>Procedimento experimental</b>	56
4.3.1	<b>Procedimento geral</b>	56
4.3.2	<b>Estudo do modo de injeção no sistema FIA</b>	58

<b>4.3.3</b>	<i>Influência do pH na formação do complexo . . . . .</i>	<b>59</b>
<b>4.3.4</b>	<i>Otimização do procedimento ponto nuvem . . . . .</i>	<b>59</b>
<b>4.3.5</b>	<i>Otimização do sistema de geração de hidreto por análise de injeção em fluxo . . . . .</i>	<b>62</b>
<b>4.4</b>	<b>Estudo da seletividade do método . . . . .</b>	<b>64</b>
<b>4.5</b>	<b>Teste de interferentes . . . . .</b>	<b>65</b>
<b>4.6</b>	<b>Figuras de mérito . . . . .</b>	<b>65</b>
<b>4.7</b>	<b>Procedimento analítico para a determinação de arsênio inorgânico .</b>	<b>65</b>
<b>4.7.1</b>	<i>Preparo das amostras . . . . .</i>	<b>65</b>
<b>4.7.2</b>	<i>Determinação de arsênio total . . . . .</i>	<b>66</b>
<b>4.7.3</b>	<i>Determinação de As(III) . . . . .</i>	<b>66</b>
<b>4.7.4</b>	<i>Determinação de As(V) . . . . .</i>	<b>66</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES . . . . .</b>	<b>67</b>
<b>5.1</b>	<b>Estudo do modo de injeção no sistema FIA . . . . .</b>	<b>67</b>
<b>5.2</b>	<b>Influência do pH na formação do complexo . . . . .</b>	<b>69</b>
<b>5.3</b>	<b>Otimização do procedimento ponto nuvem . . . . .</b>	<b>71</b>
<b>5.4</b>	<b>Otimização do sistema de geração de hidreto por análise de injeção em fluxo . . . . .</b>	<b>80</b>
<b>5.5</b>	<b>Estudo da seletividade do método . . . . .</b>	<b>88</b>
<b>5.6</b>	<b>Teste de interferentes . . . . .</b>	<b>89</b>
<b>5.7</b>	<b>Figuras de mérito . . . . .</b>	<b>91</b>
<b>5.8</b>	<b>Exatidão e aplicação do método . . . . .</b>	<b>93</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO . . . . .</b>	<b>97</b>
	<b>REFERÊNCIAS . . . . .</b>	<b>99</b>



## INTRODUÇÃO

---

Dentre as principais fontes causadoras do impacto ambiental existente, pode-se destacar: a mineração, a agricultura, a produção de energia, construções civis (urbanização, estradas, etc.), transportes, exploração florestal e as indústrias básicas (químicas e metalúrgicas) (ALVARENGA; ALMEIDA, 2015).

A mineração no Brasil teve início na época colonial, quase dois séculos posteriores à chegada dos portugueses no território sul-americano, mais precisamente no século XVII. Os interesses portugueses estavam destinados a alguns recursos como o pau-brasil, tabaco, açúcar e mão de obra escrava, justificando a demora em se descobrir as jazidas. O setor de mineração brasileiro teve seu desenvolvimento acelerado no século XVIII, determinado pela descoberta de jazidas de ouro, o que colocou o Brasil como o primeiro grande produtor mundial de ouro (CHAVEZ *et al.*, 2001).

Dentre os impactos causados pela mineração, a degradação da paisagem destaca-se como o mais característico. Outros efeitos são ruídos e vibração provenientes do desmonte de material consolidado, a geração de poeira e gases provenientes da perfuração das rochas e dos meios de transportes, além dos efeitos relacionados à poluição das águas (SILVA, 1995). A qualidade das águas dos ecossistemas aquáticos sob o impacto da mineração pode ser prejudicada por substâncias lixiviadas ou contidas nos efluentes das áreas de mineração e pela turbidez provocada pelos sedimentos finos em suspensão (BESSELL-BROWNE *et al.*, 2017).

Sedimento é um material sólido constituído de matéria orgânica e partículas minerais (areia, silte e argila) que surge pela ação de diversos fenômenos naturais que atuam na atmosfera, na hidrosfera e na biosfera que uma vez depositadas nos cursos d'água se acumulam na superfície terrestre. As precipitações (chuvas), variações de temperatura e os ventos são alguns dos fatores relacionados com a formação de sedimentos, que ao mesmo tempo que são fundamentais para manter o ecossistema aquático, podem também atuar como fixadores de poluentes.

Os elementos tóxicos estão presentes nos sedimentos em quantidade traço (1 – 100

$\mu\text{g.Kg}^{-1}$ ), porém essa quantidade pode aumentar expressivamente devido a atividades antropogênicas como, por exemplo, descargas de efluentes industriais e de esgoto, mineração, aplicação de fertilizantes e pesticidas, entre outros. Existe a possibilidade do elemento depositado no fundo do rio como sedimento voltar para a fase líquida por meio de processos químicos e bioquímicos, que incluem: variação da salinidade, temperatura, pH, atividade de microrganismos e o tamanho das partículas em suspensão (HOROWITZ, 1991).

Estudos realizados em ambientes aquáticos contaminados mostraram que existe uma correlação entre a concentração de contaminante em matrizes abióticas e a fauna residente, sendo um indicador de bioacumulação por esses organismos (PRICE *et al.*, 2016). A bioacumulação descreve um processo que ocorre em um nível trófico e se relaciona ao aumento da concentração de poluentes nos tecidos ou órgãos dos organismos. Estes poluentes são absorvidos pelo organismo de forma direta quando assimilados a partir do meio ambiente (solo, sedimento, água) ou indiretamente pela ingestão de alimentos contaminados. A partir deste processo, pode ocorrer a biomagnificação, que é um fenômeno que consiste no acúmulo progressivo de poluentes em níveis tróficos superiores. Dessa maneira, os ocupantes de níveis superiores da cadeia alimentar têm maiores concentrações desses poluentes do que suas presas e os efeitos tóxicos dos poluentes podem afetar a taxa de mortalidade das espécies mais sensíveis e também alterar outros processos vitais como o crescimento e a reprodução (HEPP; PRATAS; GRACA, 2017).

A toxicidade de um elemento depende de alguns fatores, como a sua concentração, tempo, nível de exposição e das espécies químicas do elemento presente no indivíduo (PARSONS; BARBOSA JÚNIOR, 2007). Sendo assim, torna-se importante conhecer a concentração desse elemento de interesse com adequada precisão e exatidão, exigindo o desenvolvimento de procedimentos analíticos para esse tipo de análise em diferentes tipos de matrizes.

Diante deste contexto, a Química Analítica desempenha um papel importante no desenvolvimento de novos procedimentos para determinação de elementos presentes em amostras ambientais, biológicas e de alimentos em níveis de concentração muito baixos.

No Brasil e em várias localidades do mundo foram determinados teores de Arsênio total ( $\text{As}_t$ ) em águas subterrâneas, solos e em rejeitos de área de mineração (SUN *et al.*, 2016; RIEUWERTS *et al.*, 2014). Embora a determinação da concentração total de um elemento ainda seja muito útil, é fundamental nos métodos analíticos, a determinação das espécies químicas que o elemento está distribuído para avaliar a sua toxicidade e biodisponibilidade e, dessa forma, a análise de especiação torna-se necessária (JITARU *et al.*, 2016).

Estudos envolvendo o comportamento de espécies químicas no ambiente exigem métodos de análise com baixos limites de detecção. Em revisão (WU; SUN, 2016) foram apresentadas discussões de diferentes métodos para análise de arsênio em amostras ambientais, de alimentos e biológicas. Os procedimentos não cromatográficos além de fornecerem informações suficientes sobre a especiação elementar para uma série de situações, podem ser menos demorados e disponíveis, além de apresentarem limites de detecção compatíveis.

---

Para a quantificação de substâncias elementares, as técnicas de espectrometria atômica são bastante empregadas, pois apresentam boa seletividade e relativa simplicidade em relação a outras técnicas analíticas.

Considerações importantes foram feitas por Dedina e Tsalev (1995) sobre o potencial do método de Geração de Hidreto, do inglês, *Hydride Generation* (HG) acoplada a técnicas de Espectrometria de Absorção Atômica, do inglês, *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS), assim como Santos *et al.* (2017) e Nakahara (2005) em outras revisões . Sem dúvida, a determinação por HG tem sido empregada preferencialmente em AAS, apesar do interesse crescente pelo método empregando técnicas como a Espectrometria de Fluorescência Atômica, do inglês, *Atomic Fluorescence Spectroscopy* (AFS) (GRIJALBA; FIORENTINI; WUILLOUD, 2017; GRIJALBA *et al.*, 2016; FARÍAS *et al.*, 2015), a Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* (ICP OES) (WELNA; BORKOWSKA-BURNECKA; POPKO, 2015; DADOS *et al.*, 2014; WELNA; SZYMCZYCHA-MADEJA, 2014; ILANDER, A.; VÄISÄNEN, A., 2011) e a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* (ICP-MS) (GUERRERO *et al.*, 2017; WU; SUN, 2016; PÉTURSDÓTTIR *et al.*, 2012).

A Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos, do inglês, *Hydride Generation Atomic Absorption Spectroscopy* (HG AAS) é baseada na formação de hidretos voláteis produzidos em solução a partir da adição de um agente redutor apropriado à amostra acidificada. Após a formação dos hidretos, os mesmos são transportados a um atomizador, geralmente um tubo de quartzo aquecido. Neste contexto, a HG AAS torna-se uma técnica adequada à determinação de arsênio em baixas concentrações que, acoplada ao sistema de injeção em fluxo, reduz o consumo de reagentes e apresenta frequência analítica elevada (HESSE; RISTAU; EINAX, 2015).

Para melhorar os limites de detecção das técnicas e obter uma boa sensibilidade, as etapas de extração e pré-concentração do analito podem ser fundamentais na aplicação de um método (HAGIWARA *et al.*, 2015). Essas etapas minimizam o efeito de interferentes em matrizes complexas e aumentam a sensibilidade do procedimento a partir da obtenção de uma subfração da amostra original enriquecida com as substâncias de interesse analítico, de forma a se obter uma separação livre de interferentes e com detecção adequada. Dentre alguns procedimentos de extração pode-se citar a Extração Líquido-Líquido, Troca Iônica e a Extração por Ponto Nuvem, do inglês, *Cloud Point Extraction* (CPE).

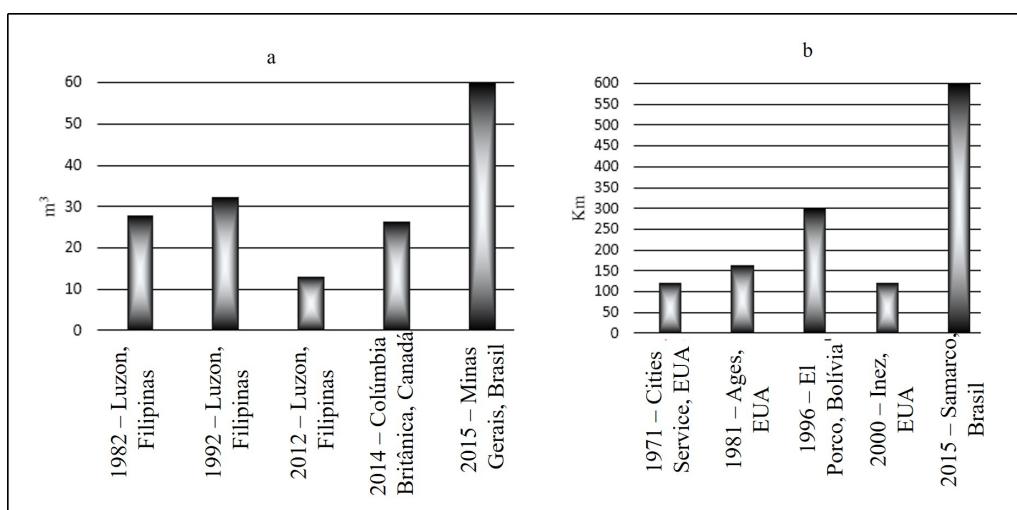
A extração por ponto nuvem torna-se conveniente por exigir adição de pequena quantidade de surfactante na solução aquosa da amostra, eliminando a necessidade do uso de grandes quantidades de solventes orgânicos como ocorre na extração líquido-líquido (SHI *et al.*, 2017). Essa metodologia está condicionada à qualquer componente presente em solução que seja capaz de se associar às micelas, ou de ser dissolvido em seu interior orgânico (que atua como fase

pseudo-orgânica).

Neste trabalho utilizou-se a CPE para a determinação de arsênio em sedimentos empregando a geração de hidretos em um sistema de Análise por Injeção em Fluxo, do inglês, *Flow Injection Analysis* (FIA) por multicomutação. As amostras de sedimento fornecidas, foram coletadas na região da Bacia do Rio Doce no Espírito Santo, região que foi afetada em novembro de 2015 pelo rompimento da barragem de Fundão, localizada no subdistrito de Bento Rodrigues, a 35 Km da cidade de Mariana (MG).

O rompimento da barragem de rejeitos de mineração controlada pela Samarco Mineração S.A. foi um dos maiores desastres do gênero. A Figura 1 apresenta os principais acidentes relacionados ao rompimento de barragens de mineradoras no mundo, abordando tanto o volume de resíduo gerado quanto a distância percorrida pelos rejeitos. Com relação ao acidente ocorrido em Minas Gerais, observa-se que a quantidade de rejeitos de mineração em metros cúbicos que atingiu várias cidades é quase duas vezes maior que o acidente ocorrido em Luzon no ano de 1992. Além disso, a área afetada foi bem superior aos demais acidentes, percorrendo aproximadamente 600 Km, enquanto que o segundo maior acidente nesse aspecto, em El Porco no ano de 1996, percorreu uma distância de aproximadamente 300 Km.

Figura 1 – Cinco maiores acidentes mundiais com barragens representados por: (a) volume de resíduo gerado em milhões de  $m^3$  e (b) distância percorrida em Km.



Fonte: (Bowker Associates, Science & Research In The Public Interest, 2015)

O interesse na análise de sedimentos está na avaliação da concentração de elementos tóxicos, que é um indicador de sua qualidade. Para o acompanhamento desse parâmetro, a quimiometria foi introduzida na análise de dados químicos para o desenvolvimento do procedimento analítico na determinação de espécies contaminantes (CRNKOVIC *et al.*, 2016; REINHOLDS *et al.*, 2015; RODRIGUES *et al.*, 2014). A vantagem dos métodos multivariados consiste em avaliar, interpretar e extrair uma quantidade maior de informações a partir de um número reduzido de experimentos simultâneos entre as variáveis estudadas, com destaque aos sistemas de planejamento fatorial e a metodologia de superfície de resposta (SUBHA; SONG; WOO, 2017; YAVARI *et al.*, 2017).



## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

---

### 2.1 Arsênio

O arsênio é um elemento químico de símbolo As, com número atômico 33 e massa atômica de 75 u. Está localizado no grupo 15 da Tabela Periódica e segundo a classificação dos elementos é considerado um metaloide, pois possui propriedades de um metal e de um não metal (DUARTE, 2006).

É um elemento com ampla distribuição na biosfera. Os oceanos possuem uma concentração média de 2,0 a 3,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , enquanto a crosta terrestre apresenta uma média de 2,0  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  (OCHSENKÜHN-PETROPULU; VARSAMIS; PARISSAKIS, 1997). O arsênio inorgânico está associado com minerais na forma de arsenatos, arsenitos, óxidos e arsênio elementar. Geralmente esses minerais também são encontrados associados à metais de transição como Cd, Pb, Ag, Au, Sb, P, W e Mo (SMEDLEY; KINNIBURGH, 2002). Dentre as fontes mais importantes de arsênio em região de mineração, a arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ) e a pirita ( $\text{FeS}_2$ ) são os minerais mais abundantes e são, com frequência, os hospedeiros do ouro (NORDSTROM *et al.*, 2000).

Algumas espécies de arsênio são encontradas em sua forma metilada, uma vez que são produzidas como metabólitos em vários organismos devido à presença de bactérias (como *E. coli*, *Flavobacterium sp*, *Methanobacterium sp*) e fungos (como *Aspergillus glaucus*) que apresentam a capacidade de biometilar arsênio (MA *et al.*, 2017). Além disso, a flora e a fauna marinha também contêm compostos derivados do arsênio, pois nas vias metabólicas o nitrogênio e o fósforo podem ser facilmente trocados por ele. Entre esses compostos é possível citar a Arsenobetaína (AsB), a Arsenocolina (AsC) e arsено-açúcares de origem algal (LOMAX *et al.*, 2012).

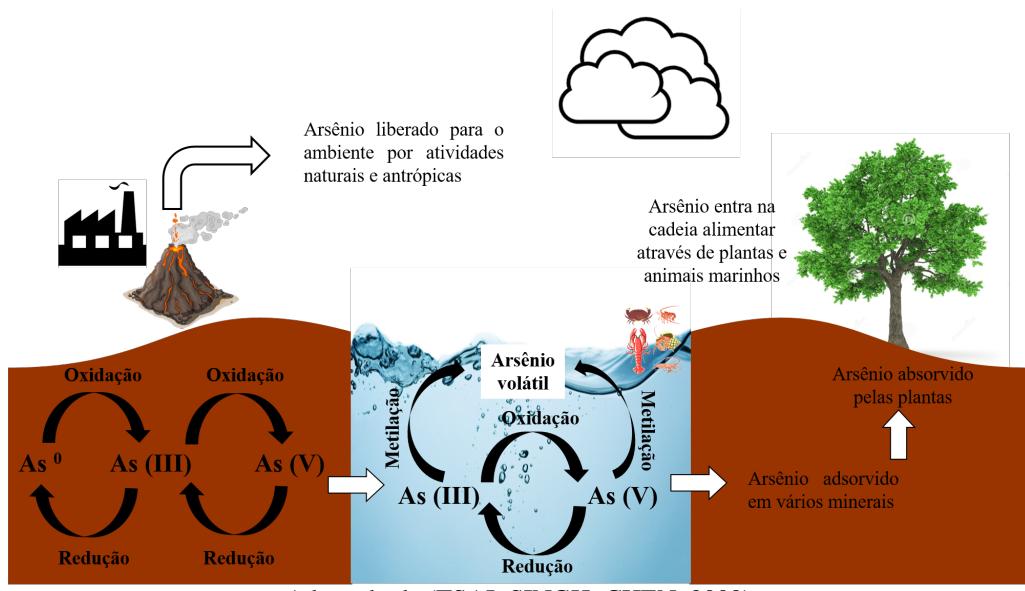
No solo é possível encontrar tanto arsênio orgânico quanto inorgânico, sendo que a forma encontrada depende de fatores climáticos e de componentes que podem influenciar no potencial redox (FAYIGA; SAHA, 2016). No ar, o arsênio encontra-se adsorvido em materiais particulados

e presente, principalmente, na forma de arsenito ( $\text{AsO}_2^-$ ) e arseniato ( $\text{AsO}_4^{3-}$ ). Estes compostos são facilmente absorvidos, tanto oralmente quanto por inalação. Alguns compostos de arsênio, emitidos principalmente por atividades antrópicas, são toxinas cancerígenas e são responsáveis pela mudança natural do ciclo biogeoquímico do arsênio (YANG *et al.*, 2012).

O limite aceitável de arsênio em águas naturais é de, no máximo,  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$  (WHO, 2001). Na água do mar, embora as espécies de arsênio elementar ( $\text{As}^0$ ) e arsina ( $\text{AsH}_3$ ) sejam raras, arsenito, arseniato, Óxidos de Tetrametilarsônio (TMAO), AsC, AsB, Monometilarsônico (MMA), Dimetilarsônico (DMA) e arsênio ligado a lipídios são encontrados com maior frequência (MOREIRA *et al.*, 2016).

As formas encontradas em ambientes fortemente redutores são  $\text{As}^0$  e  $\text{AsH}_3$ . O arsenito predomina em condições moderadamente redutoras e o arseniato é o composto mais estável em ambientes oxidantes (WHO, 2001). O arsênio presente na atmosfera, pedosfera, hidrosfera e biosfera pode ser de origem natural ou antropogênica e as diferentes formas encontradas estão relacionadas com o ciclo biogeoquímico do arsênio. Esse ciclo, representado na Figura 2, envolve processos físico-químicos (oxidação/redução, precipitação/solubilização e adsorção/dessorção) e processos biológicos (principalmente microbiológicos) (LIEVREMONT; BERTIN; LETT, 2009).

Figura 2 – Ciclo biogeoquímico do arsênio.



O intemperismo das rochas é responsável pela liberação do arsênio na biosfera e hidrosfera e a presença do elemento na atmosfera deve-se ao processo de erosão pelo vento, processos de volatilização e emissões vulcânicas. A extração de metais pelas mineradoras, que só é possível através da quebra de rochas e escavação de solos, pode levar à liberação deste elemento no solo e corpos de água adjacentes (NAZARI; RADZINSKI; GHAHREMAN, 2016; LIEVREMONT; BERTIN; LETT, 2009).

Apesar da principal fonte de contaminação do arsênio ocorrer de forma natural, a

mineração e o refino de metais são atividades antrópicas que contribuem e aceleram a liberação desse elemento no ambiente. Outras atividades humanas também podem resultar na liberação de arsênio no ambiente, tais como: o uso de pesticidas e insumos agrícolas, processos de fabricação de vidros e de semicondutores e a combustão do carvão (BAIRD; CANN, 2011).

Uma vez liberado no ambiente, o arsênio pode ser transformado por organismos aquáticos. A proporção de seus estados oxidativos em um determinado ambiente depende das reações envolvidas no metabolismo de microrganismos, especialmente de bactérias, como a redução do As(V), a oxidação do As(III) e as reações de metilação. Essas reações podem afetar a especiação e mobilidade do arsênio, pois protegem os microrganismos dos efeitos tóxicos do elemento e podem contribuir para o aumento ou redução da contaminação, dependendo da estrutura da comunidade bacteriana presente no ambiente (WATANABE; HIRANO, 2013). Além disso, as arsinas metiladas são espécies voláteis e rapidamente liberadas para a atmosfera (OREMLAND; STOLZ, 2003).

Uma vez que o arsênio sofre transformações durante determinados processos, isso significa dizer que o mesmo se encontra presente em diferentes formas. A importância e o interesse na determinação quantitativa das espécies de arsênio estão na relação existente entre as diferentes espécies químicas e a sua toxicidade, porque esta é fortemente dependente de sua forma química, que pode ser devido ao grau de alquilação ou aos diferentes estados de oxidação.

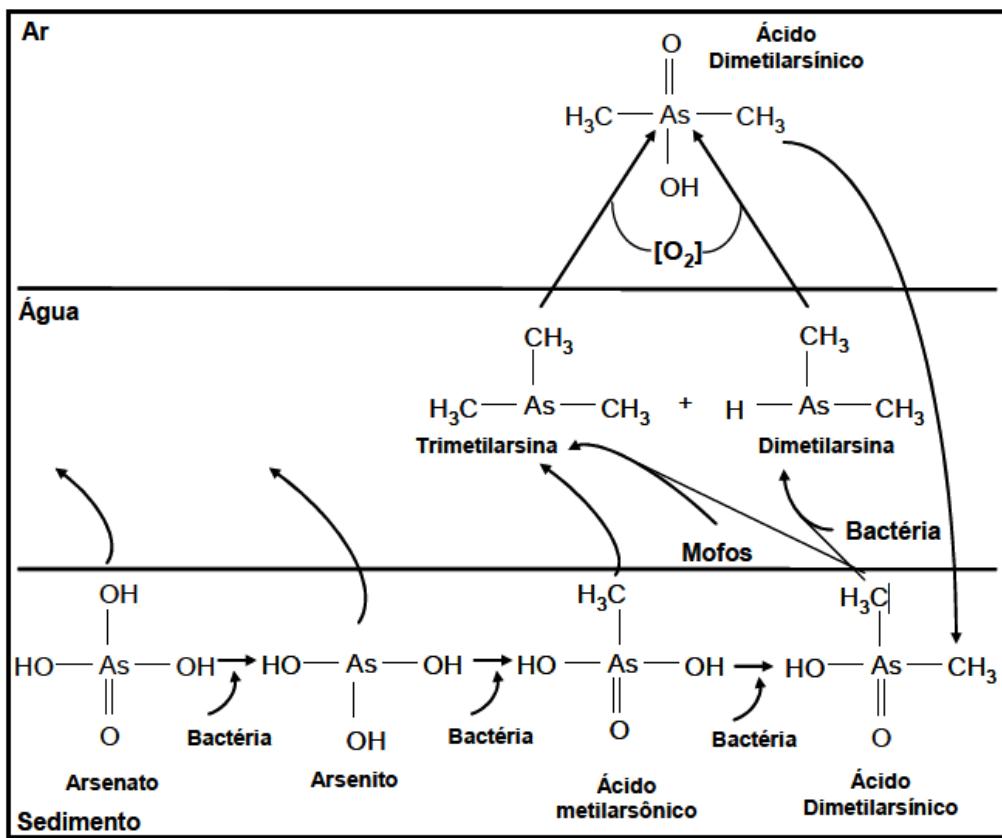
A espécie trivalente de arsênio é cerca de 60 vezes mais tóxica que a espécie pentavalente e as espécies inorgânicas são aproximadamente 100 vezes mais tóxicas que espécies orgânicas (WHO, 2001).

A Dose Letal para 50% de uma população de ratos ( $LD_{50}$ ) para  $As_2O_3$  é de  $20\text{ mg} \cdot kg^{-1}$ , para  $KAsO_2$  é de  $14\text{ mg} \cdot kg^{-1}$ , para  $Ca_3(AsO_4)_2$  é de  $20\text{ mg} \cdot kg^{-1}$ , para MMA é de 700-800  $mg \cdot kg^{-1}$ , para DMA é de 700-2600  $mg \cdot kg^{-1}$ , enquanto que para AsB e AsC não foi observado sinal de toxicidade após dose oral de  $10\text{ g} \cdot kg^{-1}$  e de  $6,5\text{ g} \cdot kg^{-1}$  respectivamente. Dessa forma, a ordem decrescente do grau de toxicidade das espécies mais importantes de arsênio é: arsina > arsenito > arseniato > ácidos alquil-arsênicos > compostos de arsênio > arsênio elementar (CAI *et al.*, 2016).

Devido às diferentes propriedades dos compostos de arsênio, o entendimento do seu comportamento no ambiente é complexo. O aspecto bioquímico mais observado é a metilação, pois o arsênio inorgânico pode ser convertido em formas metiladas no meio ambiente. Posteriormente, estas espécies são liberadas no meio aquoso, tornando-se disponível para aumentar os níveis de arsênio na cadeia alimentar, como apresentado na Figura 3. Como a biodisponibilidade e os efeitos fisiológicos/toxicológicos do arsênio dependem de sua forma química, a análise de especiação é um instrumento importante para a avaliação de riscos à saúde da população assim como para a identificação de possíveis fontes de contaminação.

Algumas instituições de referência em toxicologia, como a Agência Internacional de

Figura 3 – Processo de biometilação do arsênio.



Fonte:(DUARTE, 2006)

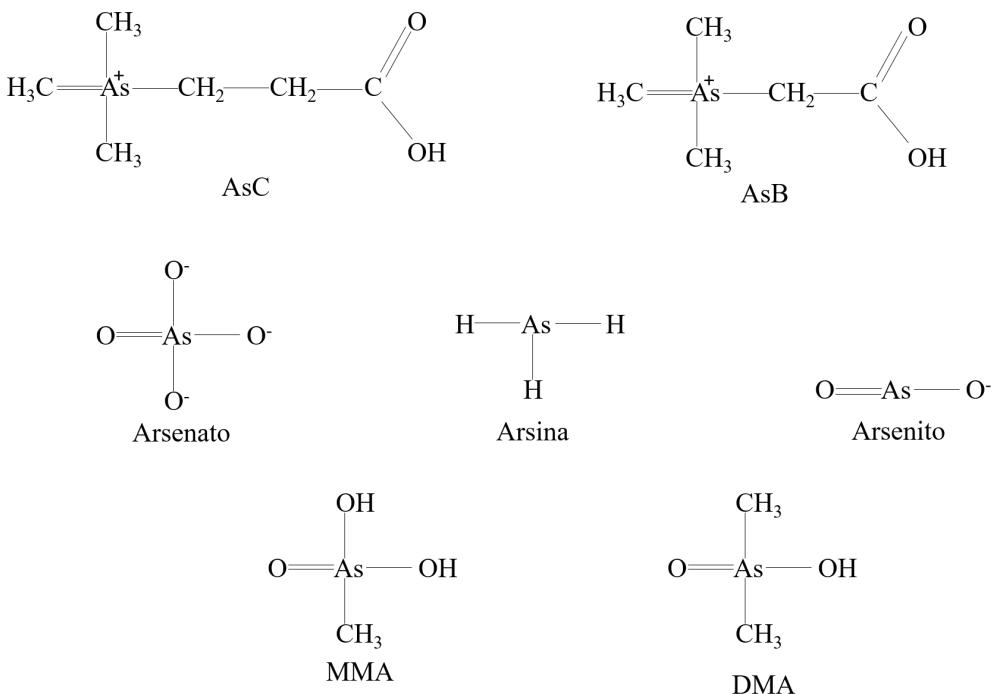
Pesquisa do Câncer (IARC, 2012), Conferência Americana das Indústrias Higienistas Governamentais (ACGIH, 2003) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) classificam o arsênio e seus compostos como “conhecido cancerígeno humano”.

As espécies inorgânicas de arsênio são muito solúveis em água, sendo uma das substâncias causadoras de câncer em humanos devido o consumo de água e alimentos contaminados, além de serem bioacumulativas. Elevada exposição a compostos inorgânicos de arsênio pode provocar envenenamento crônico e levar ao desenvolvimento de uma doença conhecida como arsenicose, que é caracterizada por hiperqueratose e hiperpigmentação na pele. Além disso, a atividade celular é afetada por inibição enzimática e as consequências são câncer de pele, doenças cardiovasculares, distúrbios do sistema nervoso central e vascular periférico e gangrena (morte/putrefação) dos membros (ABDUL *et al.*, 2015).

O arsênio absorvido pelo organismo fica retido inicialmente nos glóbulos vermelhos, deposita-se posteriormente nos tecidos e fica armazenado principalmente no fígado, rins e pulmões. É também depositado nos cabelos e ossos, onde fica retido por longos períodos (ABDUL *et al.*, 2015).

Na Figura 4, são apresentadas algumas formas orgânicas e inorgânicas de arsênio encontradas no ar, na água e no solo.

Figura 4 – Principais espécies de arsênio biodisponíveis no ambiente.



## 2.2 Determinação de Arsênio Total e Especiação

Medidas analíticas relacionadas a determinação total de um elemento específico na amostra, desde as espécies tóxicas até as necessárias ou essenciais aos organismos vivos, não são suficientes para investigações toxicológicas, uma vez que o estado de oxidação em que o elemento é introduzido no meio ambiente, é de fundamental importância. Diante disso, torna-se necessário o desenvolvimento de um procedimento seletivo para a determinação da espécie de interesse.

Especiação química é definida como a distribuição das diversas formas que um elemento químico pode se encontrar em uma determinada amostra e o processo para identificar e/ou quantificar uma ou mais espécies de um elemento é conhecido por análise de especiação (IUPAC, 2014). Logo, para a análise de especiação é necessário ter certeza que está determinando a espécie de interesse e não um somatório de todas as espécies (NEARING; KOCH; REIMER, 2014).

Estudos envolvendo a análise de arsênio em amostras biológicas e ambientais despertam grande interesse em função da sua toxicidade e biodisponibilidade. O método analítico adequado depende do procedimento de preparo da amostra e outros fatores, como o armazenamento e o pré-tratamento das amostras que também devem ser levados em consideração.

A especiação de arsênio em solos e sedimentos é fundamentada no processo de lixiviação, e as espécies predominantes são As(III) e As(V) (NICHOLAS *et al.*, 2017). Alguns métodos propostos de extração utilizam soluções de cloridrato de hidroxilamina ( $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ ) + ácido fosfórico, oxalato + ácido ascórbico aquecido,  $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{HF}$  (LOCK *et al.*, 2016), ácido

ortofosfórico + ácido ascórbico 0,1 mol.L<sup>-1</sup> assistida por microondas (LOU; WENGI LIU; XIAODONG LIU, 2014).

Para melhorar o limite de detecção na determinação total de arsênio, as técnicas de espectrometria de absorção ou emissão atômica vêm substituindo as técnicas colorimétricas. A espectrometria de fluorescência por raios-X e Ablação por Laser, do inglês, *Laser Ablation* (LA) com detecção por ICP-MS, por exemplo, têm sido utilizadas para a determinação total de arsênio em diferentes tipos de amostras sólidas (BONG *et al.*, 2012; KUMTABTIM *et al.*, 2011).

A técnica de HG no caso do arsênio ou de vapor frio no caso do mercúrio, pode ainda melhorar os limites de detecção na análise de especiação, uma vez que o estado de oxidação menor do elemento é favorecido devido à cinética da reação com borohidreto de sódio ou com outro reagente adequado (LUO *et al.*, 2017; JESUS *et al.*, 2013).

Tanto a redução quanto à oxidação de arsênio pode ocorrer mediante processos químicos, logo, para a análise de especiação de arsênio inorgânico, deve-se primeiramente definir qual a espécie será determinada e utilizar agentes redutores ou oxidantes para reduzir As(V) a As(III) ou para oxidar As(III) a As(V), respectivamente. Feito isso, determina-se o total da espécie inorgânica e por diferença das concentrações da espécie total e a espécie determinada seletivamente pelo método desenvolvido, calcula-se a concentração da outra espécie.

Santos *et al.* (2017) realizaram um estudo de análise da especiação química de arsênio inorgânico em produtos de arroz (farinha, biscoito, massa, leite em pó, bolo, bebida láctea, vinagre, vinho e cerveja) utilizando HG-AAS. A geração seletiva de arsina do As(III) foi conseguida com NaBH<sub>4</sub> a 0,1% (m/v) e HCl a 10 mol.L<sup>-1</sup>. O arsênio inorgânico foi determinado por pré-redução (em KI 4% m/v + 0,8% m/v de ácido ascórbico + 1,9 mol.L<sup>-1</sup> de HCl) seguido de determinação nas mesmas condições utilizadas para As(III). A concentração de As(V) foi estimada por diferença entre arsênio inorgânico total e As(III). O arsênio total nas amostras sólidas de arroz foi extraído com K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> a 2% (m/v) e HNO<sub>3</sub> a 10% (m/v) enquanto que as amostras líquidas foram simplesmente diluídas com HNO<sub>3</sub> 0,28 mol.L<sup>-1</sup>. Para os produtos sólidos, os limites de quantificação do método foram 5,4; 15 e 23 ng.g<sup>-1</sup>, respectivamente, para As(III), arsênio inorgânico e As<sub>t</sub>. Enquanto que para as amostras líquidas foram de 0,54 a 2,7 µg.L<sup>-1</sup> para As(III), 0,94 a 9,4 µg.L<sup>-1</sup> para arsênio inorgânico e 1,1 a 5,7 µg.L<sup>-1</sup> para arsênio total.

Sun *et al.* (2013) realizaram a análise de especiação de arsênico inorgânico em amostras de carvão por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidreto após extração assistida por microondas. Os extratos de As(III) e As(V) foram obtidos por tratamento da amostra em H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 1,0 mol.L<sup>-1</sup> e ácido ascórbico 0,1 mol.L<sup>-1</sup>. Nas condições otimizadas, os limites de detecção foram 0,01 µg.L<sup>-1</sup> e 0,02 µg.L<sup>-1</sup>, com recuperações de 102,5% e 96,5%, respectivamente, para As(III) e As(V).

Já Akter *et al.* (2005) estudaram o desempenho de CE-UV, HG-AAS e LC-ICP-MS

para a especiação de arsênio em amostras de águas. As espécies estudadas foram arsenito, arseniato e DMA. Os limites de detecção foram de 0,10 – 0,19, 100 – 500 e 0,1 – 0,2  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente, para HG-AAS, CE-UV e LC-ICP-MS.

## 2.3 Sedimentos

Devido a atividade antrópica, níveis elevados de elementos tóxicos podem ser encontrados nas águas e sedimentos. Tais elementos encontram-se distribuídos como íons solúveis, complexos inorgânicos e orgânicos solúveis, íons facilmente trocáveis, complexos orgânicos insolúveis, sulfetos insolúveis e formas residuais (COSTA, 2002).

Os sedimentos desenvolvem um papel importante nos ambientes aquáticos, pois são fontes de alimento e habitat para a fauna. Também são depósitos de partículas sólidas inorgânicas, matéria orgânica e constituintes adsorvidos, onde menos de 1% das substâncias presentes são dissolvidas em água, logo, mais de 99% estão estocadas nos sedimentos (SALOMONS; STIGLIANI, 1995). A proporção dos minerais para matéria orgânica varia substancialmente em função do local.

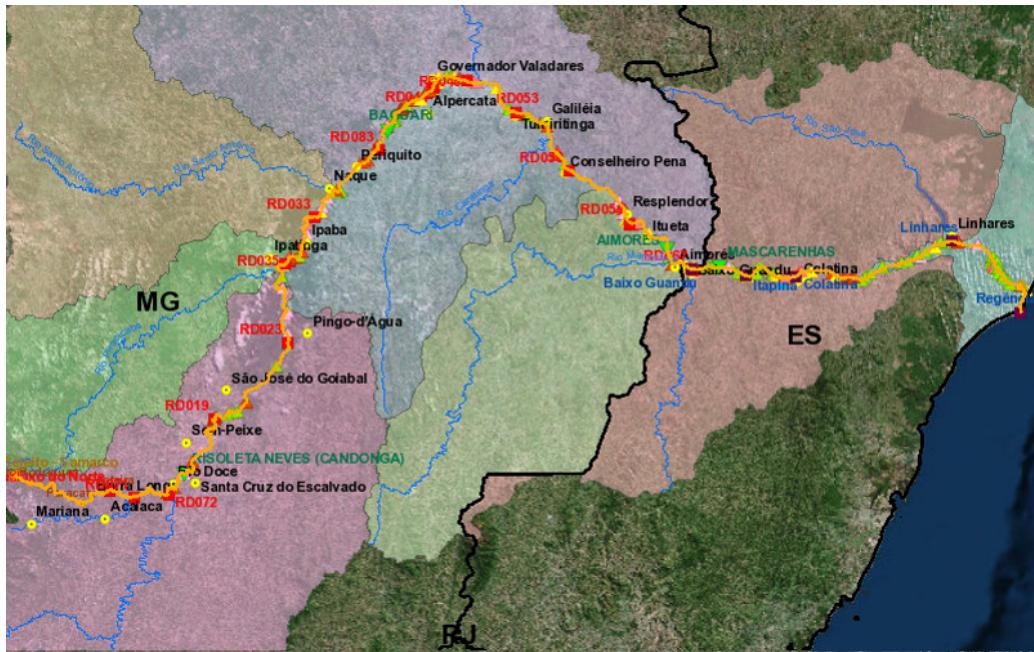
Dependendo das condições ambientais, os sedimentos podem ser um depósito ou uma fonte de elementos traço das águas superficiais, pois os elementos não são permanentemente fixos aos sedimentos, podendo ser reciclados biologicamente ou quimicamente, retornando à coluna d'água (TANG *et al.*, 2017). Grandes quantidades de arsênio em sedimentos podem indicar enriquecimento de origem geogênica, mas a urbanização e a industrialização vêm acompanhadas de atividades humanas que contribuem para a contaminação do solo, água e dos sedimentos. Sendo assim, a investigação de arsênio presente em sedimentos é realizada considerando que o sedimento é um compartimento aquático ativo de distribuição de arsênio à biota aquática. Portanto, a contaminação do sedimento é um grande problema de poluição ambiental em todo o mundo (RIBEIRO, 2002).

## 2.4 Bacia hidrográfica do Rio Doce

A Bacia hidrográfica do Rio Doce, apresentada na Figura 5, localiza-se na região Sudeste e tem área de 83.400  $\text{km}^2$  desde a nascente até o oceano Atlântico, no povoado de Regência-ES. De todo seu território, 86% está em Minas Gerais e 14% no Espírito Santo. A população de 3,5 milhões de habitantes distribui-se em mais de 230 municípios nos dois Estados.

O rio Doce é caracterizado como um extenso rio que adentra no planalto mineiro. Seu traçado a partir de sua formação assemelha-se mais ou menos à forma do litoral e, em Governador Valadares, o rio toma a direção leste a caminho do oceano. Este traçado é explicado pelas características morfoestruturais variadas que ocorrem no interior da bacia, podendo ser dividida em três Unidades Regionais: Alto, Médio e Baixo Rio Doce (COELHO, 2007).

Figura 5 – Mapa da Bacia Hidrográfica do Rio Doce.



Fonte: (ANA:Agência Nacional de Águas, 2015)

O clima da bacia é o tropical úmido, porém, não apresenta uma uniformidade climática. Esta diversidade é devida às características de relevo e do encontro de massas de ar que atuam no interior da bacia, como é o caso do Sistema Tropical Atlântico que predomina grande parte do ano, e também, do Sistema Equatorial Continental, provocando Linhas de Instabilidade à Tropical, principalmente no verão, provocando chuvas intensas. Normalmente, a estação chuvosa se inicia em novembro e se prolonga até maio com uma distribuição heterogênea no interior da bacia. As regiões de maior altitude e as litorâneas apresentam maiores índices de precipitações, enquanto os fundos de vales e regiões deprimidas são as que apresentam menores índices totais anuais. O regime fluvial do rio Doce é perene e, de modo geral, acompanha a pluviosidade. Os picos de cheias ocorrem nos meses de dezembro, janeiro e março, e as vazantes extremas nos meses de agosto e setembro (EUCLYDES *et al.*, 2011).

Quase toda a bacia apresenta temperaturas médias anuais elevadas durante boa parte do ano e, mesmo nos meses mais frios, as temperaturas médias anuais são superiores a 18° C e atingem temperaturas superiores a 24° C no litoral.

Essas condições climáticas, associadas às características do relevo e do solo, ocasionam a decomposição de minerais constituintes do material de origem (rocha); maior atividade no processo de pedogênese dos solos tropicais e processos naturais de erosões, apontando que a Bacia Hidrográfica do Rio Doce é uma das regiões com maior potencialidade na produção de sedimentos no país (CHEREM, 2012).

A escolha dessa região para o desenvolvimento dessa dissertação, após o trágico acidente ocorrido no complexo minerário, deve-se ao fato de ser um local onde o impacto causado às espécies de peixes da região junta-se aos danos provocados no solo, nas matas ciliares, nos

terraços dos rios e estende-se aos modos de vida das comunidades ribeirinhas que cultivavam lavouras, hortas e que dependem da pesca (CBH-DOCE, 2014).

A lama de rejeitos destruiu o Distrito de Bento Rodrigues. Já no distrito de Regência, situado no município de Linhares, os danos às áreas de preservação permanente nas margens destes cursos d'água são incalculáveis, além dos prejuízos sociais e econômicos a diversos proprietários rurais, povos indígenas e à população dos municípios mineiros e capixabas afetados pelo comprometimento da qualidade das águas e deposição de rejeitos.

## 2.5 Técnicas de separação e detecção

A concentração das espécies presentes em uma amostra e a sua origem são fatores importantes na escolha de uma técnica adequada para a extração e detecção do analito de interesse, uma vez que a concentração do analito presente na amostra possa estar abaixo do limite de quantificação da técnica.

A seguir serão citadas algumas técnicas de separação e detecção comumente empregadas para a determinação de arsênio.

### 2.5.1 Técnicas de separação

#### 2.5.1.1 Cromatografia a gás

A Cromatografia Gasosa, do inglês, *Gas Chromatography* (CG) é uma técnica utilizada para separação e análise de espécies voláteis na temperatura de trabalho da técnica. A amostra é vaporizada e introduzida por um fluxo de gás adequado denominado fase móvel, que passa por um tubo contendo a fase estacionária, onde ocorre a separação da mistura. Diante disso, esta técnica é utilizada para a especiação de compostos orgânicos de arsênio e, no caso das espécies inorgânicas, estas devem ser convertidas em espécies voláteis por processos de derivatização (CAMPILLO *et al.*, 2008).

O acoplamento da CG a detectores com ionização em chama, captura de elétrons, fotometria de chama, espectrômetros de massa com plasma indutivamente acoplado, espectrômetros de absorção atômica, espectrômetros de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente, tornam esta técnica uma ferramenta muito utilizada na análise de especiação (LI CHEN; MA; WEI CHEN, 2014).

A separação de arsênio por CG é controlada por uma série de parâmetros, destacando-se entre os mais importantes, a natureza da fase estacionária (coluna), temperatura da coluna, injetor e detector, derivatização, volume de injeção e sensibilidade do detector (KANG; JEONG JUNG; YHUNG JUNG, 2016).

Wang e Cui (2016) investigaram um método combinando a derivatização – extração

por fluido supercrítico – cromatografia gasosa para a especiação e determinação quantitativa de DMA, MMA e arsênio inorgânico em matrizes de solo e sedimento. O éster metílico do ácido tioglicólico (TGM) e o éster etílico do ácido tioglicólico (TGE) foram avaliados como reagentes de derivatização. Os resultados mostraram que o TGE foi mais eficaz para a especiação de arsênio como um reagente de derivatização. Além disso, a adição de microemulsão contendo o surfactante Triton X-100 pode aumentar ainda mais a recuperação de espécies de arsênio. As condições ótimas de extração foram 100° C, 30 MPa, 10 min de extração estática e 25 min de extração dinâmica com 5% (v/v) de metanol e surfactante modificado com CO<sub>2</sub>. Os limites de detecção em matrizes sólidas foram de 0,15, 0,3 e 1,2 mg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente, para DMA, MMA e arsênio inorgânico. O método foi validado por testes de adição e recuperação.

Grüter, Kresimon e Hirner (2000) desenvolveram uma técnica para especiação de arsênio (AsH<sub>3</sub>, MMA, DMA, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>As e (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)AsH<sub>2</sub>) em solo procedente de lixo doméstico. Para tal, combinaram as técnicas de Geração de Hidreto, Cromatografia Gasosa a Baixa Temperatura, do inglês, Low Temperature Gas Chromatography (LTGC) e ICP-MS e o limite de detecção foi inferior a 0,7 pg.L<sup>-1</sup>. Os mesmos autores combinaram também as técnicas HG-LTGC e ICP-MS e obtiveram limite de detecção na faixa de 2 – 12 pg.L<sup>-1</sup> na determinação de AsH<sub>3</sub>, MMA, DMA e (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>As em urina humana após o consumo de peixe.

Embora apresente muitas vantagens, a CG apresenta algumas desvantagens para especiação de arsênio, como o elevado consumo de reagentes e o processo de derivatização dos íons metálicos, principalmente em amostras ambientais, que é trabalhoso e requer atenção especial na extração das amostras (TRANCHIDA, 2017).

#### 2.5.1.2 Cromatografia líquida de alta eficiência com fase reversa

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Fase Reversa, do inglês, *Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography* (RP-HPLC) consiste de uma fase estacionária de menor polaridade e uma fase móvel de maior polaridade, diferente da fase normal que tem as polaridades invertidas. Dentre as vantagens da técnica, destaca-se o uso de fases móveis menos tóxicas e de menor custo, como metanol e água; facilidade de empregar eluição por gradiente; maior rapidez nas análises e boa reproduzibilidade dos tempos de retenção (MOLDOVEANU; DAVID, 2017). Além disso, permite a separação de espécies não voláteis de arsênio, apresentando maior aplicabilidade quando comparada a CG (ALI; JAIN, 2004).

Narukawa *et al.* (2017) desenvolveram um método por HPLC-ICP-MS após a extração assistida por bloco digestor para a quantificação total de arsênio inorgânico em farinha de arroz. Com um sistema de eluição isocrático, foi possível eluir tanto As(III) quanto As(V) no mesmo tempo de retenção e essas espécies foram completamente separadas das espécies orgânicas em uma coluna de fase reversa. A injeção rápida permitiu medir três réplicas dentro de 6 min e, combinado com uma extração de 15 minutos em HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, possibilitou extrair quantitativamente todas as espécies de arsênio da farinha de arroz.

Fang *et al.* (2016) realizaram um estudo analítico utilizando RP-HPLC-ICP-MS para a análise de especiação de arsênio e mercúrio. Foi investigado o efeito do reagente de emparelhamento iônico na separação simultânea de quatro espécies de arsênio (arsenito, arseniato, MMA e DMA) e três espécies de mercúrio (mercúrio inorgânico (HgII), metilmercúrio e etilmercúrio). O tempo de separação e re-equilíbrio foi atingido dentro de 20 min. A extração assistida por microondas em  $\text{HNO}_3$  a 1% e as curvas de calibração baseadas nas medições da área do pico foram lineares com coeficiente de correlação maior que 0,9958 para cada espécie no intervalo estudado. Os limites de detecção das espécies estavam na faixa de  $0,84 - 2,41 \mu\text{g.L}^{-1}$  para o arsênio e de  $0,01 - 0,04 \mu\text{g.L}^{-1}$  para o mercúrio. O método proposto foi então aplicado com sucesso para a determinação simultânea de espécies de arsênio e mercúrio em material padrão de farinha de arroz e dois tipos de arroz comerciais.

Rattanachongkiat, Millward e Foulkes (2004) determinaram diversas espécies de arsênio (As(III), As(V), MMA, DMA e AsB) em amostras biológicas (peixes e crustáceos) e ambientais (sedimento) utilizando HPLC-ICP-MS. A extração das espécies de arsênio em amostras biológicas foi realizada com enzimas, com recuperações entre 82 e 102%. Nas amostras ambientais, a extração foi feita utilizando  $\text{H}_3\text{PO}_4$  em sistema aberto, auxiliado com radiação microondas. Para a separação das espécies de arsênio em ambos os extratos, empregaram uma coluna Hamilton PRP-X100.

#### 2.5.1.3 Cromatografia por exclusão

É uma técnica que separa as moléculas dissolvidas com base no seu tamanho, bombeando-as por colunas especializadas que contêm material de preenchimento microporoso. Uma vantagem da técnica é a possibilidade de caracterizar compostos com massa molecular desconhecida, porém apresenta algumas desvantagens, como a dependência do tamanho molecular na separação e a capacidade limitada da coluna (NETOPILÍK, 2017).

O arsênio pode formar complexos com matéria orgânica dissolvida e é um desafio analisar as ligações do arsênio à matéria orgânica, principalmente utilizando um método de separação cromatográfica direta. A cromatografia por exclusão hifenizada com espectrofotômetro UV e ICP-MS foi desenvolvida por Liu e Cai (2013) para caracterizar a complexação de As(III) com a matéria orgânica dissolvida. Este método foi capaz de diferenciar tanto o complexo formado entre As(III) e a matéria orgânica quanto o As(III) livre.

Um método para separação de As(III), As(V), MMA, DMA e AsB utilizando a técnica da cromatografia por exclusão foi realizada por Nakazato *et al.* (2000) em resina metacrilato carboxilada. O método possibilitou a separação de até oito espécies de arsênio, porém, foi necessário uma hora para que todas as espécies sejam eluídas.

### 2.5.1.4 Eletroforese capilar

É uma técnica de separação baseada na diferença de migração de compostos iônicos ou ionizáveis na presença de um campo elétrico. Devido a necessidade em obter métodos simples, rápidos, sensíveis e de baixo custo para a especiação de arsênio, a Eletroforese Capilar, do inglês, *Capillary Electrophoresis* (CE) tem sido acoplada a detectores que utilizam radiação ultravioleta (UV), AAS, AFS, ICP OES e ICP-MS (JIANG *et al.*, 2017; MATUSIEWICZ; ŚLACHCI’NSKI, 2012).

Com essa finalidade, Liu *et al.* (2013) determinaram simultaneamente dez compostos de arsênio utilizando a CE acoplada à ICP-MS. O sistema CE-ICP-MS foi hifulado por uma nova e eficiente interface que foi utilizada diretamente como nebulizador. A separação foi conseguida num capilar de sílica fundida de 100 cm de comprimento e 50  $\mu\text{m}$  de diâmetro. A separação das dez espécies de arsênio foi conseguida utilizando um tampão constituído por  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  12 mM e  $\text{H}_3\text{BO}_3$  8 mM a pH 9,20 com uma tensão de +30 kV. Os limites de detecção dos dez compostos de arsênio variaram entre  $0,9 - 3,0 \text{ ng.g}^{-1}$  e os desvios-padrão relativos (RSD, n = 5) foram inferiores a 1,5%, 5,7% e 4,8%, respectivamente, para o tempo de migração, altura do pico e área do pico. Este método foi aplicado com sucesso em dois materiais de referência certificados (TORT-2 e DORM-3) e amostras de água subterrânea, plantas e carne de frango.

Deng *et al.* (2013) estudaram a melhor condição para a análise de especiação do arsênio inorgânico em sedimentos usando eletroforese capilar combinada com espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e geração de hidreto (CE-HG-ETAAS). Os limites de detecção de As(III) e As(V) foram  $135 \text{ ng.g}^{-1}$  e  $160 \text{ ng.g}^{-1}$ , respectivamente. Os desvios-padrão relativos da especiação de arsênio foram menores do que 2% e as recuperações de As(III) e As(V) na amostra foram de 97,6% e 96,7%, respectivamente.

## 2.5.2 Técnicas de detecção

A detecção de arsênio utilizando espectrometria atômica oferece uma boa sensibilidade em análises a nível traço e pode ser combinada com algumas técnicas de separação, principalmente as cromatográficas. Algumas aplicações das técnicas de detecção serão discutidas a seguir.

### 2.5.2.1 Espectrometria de absorção atômica

Estudos realizados para o uso da Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite, do inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy* (GF AAS) para detecção de arsênio mostraram que o acoplamento direto da HPLC à GF AAS torna-se difícil devido à sua descontinuidade de operação (GONG *et al.*, 2002). Sendo assim, é um procedimento feito em batelada para posterior análise de cada fração por GF AAS, pois envolve a coleta de frações das soluções que saem da coluna cromatográfica seguida de sua análise.

Mihucz *et al.* (2017) desenvolveram uma metodologia para especiação de arsênio inorgânico em amostras de água geotérmica e potável utilizando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite de alta resolução com fonte contínua combinado com a extração em fase sólida. As curvas de calibração foram lineares até  $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ , mas utilizando o ajuste polinomial de segunda ordem, a linearidade foi até  $500 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Foi demonstrado que o pH da amostra não deve ser superior a 8 para uma especiação precisa de As(V) com uma recuperação de aproximadamente 95%.

Sahuquillo *et al.* (2003) fizeram uma análise direta de sedimentos por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite utilizando amostras sólidas. A técnica permitiu a determinação direta de arsênio em resíduos sólidos após processos de lixiviação, além da avaliação de sua biodisponibilidade (extração sequencial BCR). Para as condições instrumentais otimizadas, o limite de detecção foi de  $0,44 \text{ mg.kg}^{-1}$ . A soma de arsênio lixiviado em  $\text{HNO}_3$  65% e a fração residual, proporcionaram recuperações entre 72 – 118% do teor total de arsênio.

A maioria dos procedimentos para determinação de espécies de arsênio por GF AAS envolvem extração de espécies inorgânicas. No entanto, Bavazzano *et al.* (1996) estudaram a extração de compostos orgânicos de arsênio, em que MMA e DMA foram totalmente extraídas e o procedimento apresentou concordância com os resultados obtidos por HPLC-ICP-MS.

A Espectrometria de Absorção Atômica com Chama, do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectroscopy* (FAAS) e GF AAS são técnicas que apresentam sensibilidade satisfatória para serem empregadas na análise de traços ou até mesmo ultra traço em casos de tratamento prévio, e são bem mais acessíveis aos laboratórios. Tais técnicas conseguem alcançar limites de detecção compatíveis com a sensibilidade requerida para determinar elementos em diversos tipos de amostras. No entanto, a FAAS requer uma etapa de digestão e um volume relativamente maior de amostra, enquanto a GF AAS permite a eliminação da matriz no próprio equipamento (*in loco*), caracterizando-o como um digestor sequencial, dispensando assim um processo mais drástico na abertura de algumas amostras, sendo necessária apenas a otimização de alguns parâmetros. Outra importante vantagem do forno de grafite é a pequena quantidade de amostra utilizada, que se enquadra dentro da faixa de microlitros. Porém, a GF AAS ainda é uma técnica que apresenta um custo elevado para aquisição e manutenção de equipamentos quando comparada à FAAS.

A Tabela 1 apresenta um comparativo entre a espectrometria de absorção atômica com chama e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.

Tabela 1 – Comparaçao entre FAAS e GF AAS.

	FAAS	GF AAS
tempo de análise	resultados em menos de 1 min	resultados entre 1 e 5 min
volume de amostra	$\text{mL}$ de amostra	$10\text{--}50 \mu\text{L}$ de amostra
interferências	bem documentadas	bem documentadas, mas que dependem das condições instrumentais
limites de detecção	níveis de $\text{mg.L}^{-1}$ ou menor	níveis de $\mu\text{g.L}^{-1}$ ou menor

Uma vez que a determinação direta de arsênio por FAAS é pouco sensível devido à baixa eficiência no processo de nebulização da amostra e também pelo curto tempo de residência do analito no meio atomizador, a determinação de suas espécies são realizadas através da combinação com Geração de Hidreto (SANTOS *et al.*, 2017), que proporciona limites de detecção compatíveis à GF AAS.

#### 2.5.2.2 Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado

Há algum tempo, a técnica de ICP OES vem sendo utilizada com HPLC na especiação de arsênio (CHAUSSEAU *et al.*, 2000). O acoplamento é feito no nebulizador pneumático pelo fato da vazão utilizada em HPLC ser compatível com a utilizada em instrumentos de ICP OES (GONG *et al.*, 2002).

Baker, Ayad e Maitham (2016) utilizaram 65 amostras do couro cabeludo humano como possível biomarcador para o nível de arsênio em cidadãos de Karbala, no Iraque. O nível de arsênio foi determinado por ICP-OES. A validade e precisão da metodologia foram avaliadas utilizando uma amostra de referência certificada e o método de validação forneceu nível de recuperação igual a 98%. O coeficiente de correlação ( $R = 0,907$ ,  $p < 0,001$ ) indicou que há correlação positiva significativa entre o nível de arsênio no cabelo e o nível de arsênio na água potável.

O sistema HPLC-ICP OES apresenta baixa sensibilidade e a introdução de um sistema com geração de hidreto entre o cromatógrafo e o ICP OES possibilita um ganho de sensibilidade (GETTAR *et al.*, 2000; MATUSIEWICZ; ŚLACHCIŃSKI, 2006).

#### 2.5.2.3 Espectrometria de massa

Essa técnica consiste na geração de íons gasosos no plasma indutivo, que são separados em função da razão massa/carga através do transporte sob ação de campos elétricos e magnéticos que modificam as suas trajetórias.

A ICP-MS é uma ferramenta atrativa para análises de especiação elementar por apresentar limites de detecção extremamente baixos para a maioria dos elementos, uma ampla faixa linear, alto poder de detecção e sensibilidade extremamente elevada e, quando acoplado à HPLC, torna-se um sistema altamente seletivo e de sensibilidade satisfatória para análises de especiação (HEITLAND *et al.*, 2017).

Um complemento perfeito à técnica supracitada é a espectrometria de massas com ionização por eletrospray (BETTENCOURT *et al.*, 2011) que pode ser utilizada separadamente ou combinada com HPLC, tornando a especiação de arsênio mais eficiente.

Contudo, contrária a essas inúmeras vantagens, o uso de ICP-MS como detector requer grandes quantidades de amostras e não é encontrado em muitos laboratórios devido ao

seu alto custo, além de restrições quanto ao uso da fase móvel quando hifenizada à HPLC (MARCINKOWSKA; BARAŁKIEWICZ, 2016).

#### 2.5.2.4 Espectrofotometria de Absorção Molecular

Os métodos espectrofotométricos utilizados para determinação de arsênio baseiam-se na formação de complexos coloridos com certos complexantes e são aplicados para as espécies trivalente (NAGY *et al.*, 2016) e pentavalente (KAMYABI; AGHAEI, 2016).

Hu, Lu e Jing (2012) desenvolveram um método colorimétrico rápido e de alta precisão. A aplicação de permanganato de potássio como oxidante de As(III) e tioureia como redutor de As(V) permitiu a diferenciação de As(III) e As(V) na formação de complexos. O limite de detecção do método foi de  $8 \mu\text{g.L}^{-1}$  ( $R^2 = 0,998$ ). A especiação de arsênio em amostras de águas subterrâneas, determinadas pelo método colorimétrico foi consistente com os resultados usando HPLC-AFS. Obtiveram uma recuperação de 96% - 116% para  $\text{As}_t$ , 85% - 122% para As(III) e 88% - 127% para As(V). O resultado colorimétrico mostrou que  $3,61 \text{ g.L}^{-1}$  de As(III) estava presente como a única espécie de arsênio em águas residuais industriais, o que estava de acordo com o resultado por HPLC-AFS, que foi de  $3,56 \text{ g.L}^{-1}$ .

#### 2.5.2.5 Voltametria de redissolução

Os métodos voltamétricos envolvem uma etapa de pré-concentração eletroquímica de arsênio: o As(III) é depositado no eletrodo de trabalho e depois redissolvido em solução durante a varredura do potencial. A determinação de arsênio por voltametria catódica e anódica empregam, respectivamente, o eletrodo de mercúrio e o de ouro como eletrodos de trabalho (NÚÑEZ; ARANCIBIA; GÓMEZ, 2016).

Um sensor eletroquímico eficiente para As(III) foi desenvolvido por Saha e Sarkar (2016) com base na adsorção de arsênio em um eletrodo de carbono vítreo de trabalho modificado pelo composto quitosana- $\text{Fe(OH)}_3$  e utilizando L-cisteína como agente redutor. O composto aumentou a adsorção de As(III) e posterior redução para  $\text{As}^0$  por redissolução anódica utilizando um potencial de deposição do tampão de acetato 0,1 M (pH 5,2), igual a -0,9 V e tempo de deposição igual a 100 s. Obteve-se uma linearidade na faixa de  $2\text{-}100 \mu\text{g.L}^{-1}$  ( $R^2 = 0.974$ ) com limite de detecção de  $0.072 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

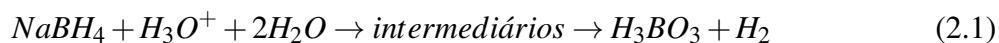
Teixeira *et al.* (2014) desenvolveram um método eletroanalítico que emprega soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  para a determinação de arsênio em aguardente de cana utilizando um eletrodo constituído por pasta de carbono modificada com nanotubos de carbono (CNTPE) e resinas poliméricas. Utilizou-se a voltametria de varredura linear (LSV) e de pulso diferencial (DPV) com redissolução catódica para CNTPE contendo óleo mineral ou silicone como aglutinante. As curvas analíticas foram lineares de  $30\text{-}110 \mu\text{g.L}^{-1}$  e de  $10\text{-}110 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente, para LSV e DPV. Os limites de detecção e quantificação de CNTPE foram  $10,3$  e  $34,5 \mu\text{g.L}^{-1}$  para óleo

mineral e 3,4 e 11,2  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para silicone. Os resultados concordaram bem com os obtidos por HG AAS.

## 2.6 Geração de hidreto em espectrometria de absorção atômica

A geração de hidretos acoplada às técnicas de espectrometria atômica é utilizada na quantificação de elementos que podem ser convertidos em hidretos e que estão presentes, principalmente, no solo, na água, sedimentos, urina, cabelos, fertilizantes e minérios. A absorção atômica destaca-se entre as técnicas por ser simples, rápida, precisa, sensível e por apresentar um baixo custo.

A HG é uma técnica de derivatização química que produz hidretos voláteis pelo tratamento da amostra com um agente redutor, geralmente borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ), em meio ácido. A formação do hidreto ocorre por ação do hidrogênio ligado diretamente ao boro, por formação de alguns intermediários (D'ULIVO *et al.*, 2004; D'ULIVO; MESTER; STURGEON, 2005; D'ULIVO *et al.*, 2007; PERGANTIS *et al.*, 1997). De acordo com essa hipótese, o processo pode ser escrito conforme Equações 2.1 e 2.2:



O  $\text{NaBH}_4$  é o agente redutor mais empregado em geração de hidreto devido a sua rápida cinética de reação e maior reproduzibilidade, podendo ser empregado tanto por sistemas em batelada quanto em fluxo, qualquer que seja o método de detecção empregado (ANAWAR, 2012). No entanto, a solução deve ser preparada em meio alcalino, geralmente  $\text{NaOH}$  ou  $\text{KOH}$ , pouco antes do uso para prevenir sua decomposição (SHALTOUT *et al.*, 2011). Além disso, a concentração de  $\text{NaOH}$  ou  $\text{KOH}$  deve ser adequada para não ocorrer supressão do sinal analítico.

O uso da técnica de HG permite a separação das espécies de arsênio da maioria de outros componentes presentes na amostra, pois apenas os hidretos voláteis são conduzidos ao atomizador. Consequentemente, o restante da matriz permanece na porção líquida e as interferências espectrais e químicas são praticamente eliminadas (POHL *et al.*, 2014). Outras vantagens da HG é a possibilidade de pré-concentração do analito através de microcolunas em linha, determinação seletiva pelo controle do pH e o acoplamento a várias técnicas de detecção (AAS, ICP OES, ICP-MS e AFS) (SMICHOWSKI; MADRID; CÂMARA, 1998).

O primeiro trabalho utilizando HG foi de Holak (1969). Para produzir arsina, ele utilizou zinco metálico como redutor e esta foi transportada para um atomizador de um espectrômetro de absorção atômica com chama. Houve um ganho de sensibilidade devido a maior eficiência de

transporte do analito em comparação à nebulização pneumática. Sendo assim, a arsina formada alcança o atomizador através do fluxo de gás inerte e também pelo próprio gás hidrogênio gerado na reação.

## 2.7 Análise por injeção em fluxo

A necessidade por resultados de análise de rotina ou de grande número de amostras tornou necessário o desenvolvimento de metodologias analíticas mais rápidas. Dentre os métodos automatizados, um dos mais interessantes por apresentar baixo custo e simplicidade de operação, destaca-se os métodos de análise por injeção em fluxo, proposto por ŘUŽIČKA e Hansen em 1975 (ŘUŽIČKA; HANSEN, 1975).

A Análise por Injeção em Fluxo consiste na injeção de uma amostra em solução líquida num fluxo carregador contínuo não segmentado. A amostra e os reagentes necessários para provocar reações de interesse são adicionados ao sistema através de fluxos confluentes, anteriormente à detecção. A zona de amostra injetada sofre dispersão e se mistura com as soluções de reagente e carregador e o produto formado é então transportado para um detector, como mostrado na Figura 6.

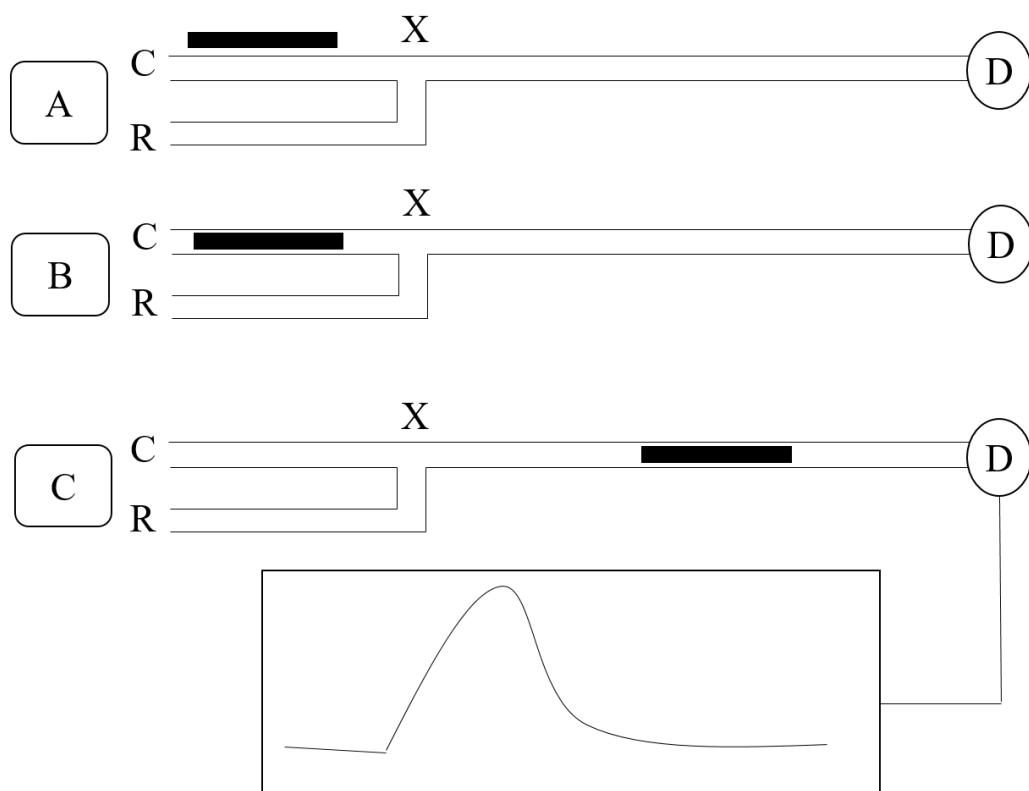
Apesar de existir outros meios de aspirar as amostras, as bombas peristálticas são mais utilizadas para movimentar soluções em sistemas de análise em fluxo. São equipamentos versáteis com múltiplos canais que possibilitam impulsionar e/ou aspirar soluções, emulsões ou mesmo suspensões, em ampla faixa de viscosidades. As vazões podem ser ajustadas de forma contínua ou em pequenos incrementos, controlando a rotação da bomba e/ou o diâmetro interno dos tubos (MANSOUR; DANIELSON, 2012).

A reproduzibilidade de inserção da amostra no fluido carregador é um dos fatores para garantir um bom desempenho dos sistemas FIA. Inicialmente, empregava-se uma seringa hipodérmica (ŘUŽIČKA; HANSEN, 1975), porém, com a evolução do processo, outros dispositivos foram propostos para esta finalidade em maior escala, o injetor comutador (ŘUŽIČKA; STEWART; ZAGATTO, 1976) e as válvulas rotativas de 6 e 8 vias (ŘUŽIČKA *et al.*, 1977; MURAKI *et al.*, 1992). O emprego de válvulas solenóides de três vias também têm sido empregadas e oferecem como vantagem o acionamento individual e sequencial, permitindo que se altere o funcionamento do módulo de análise sem alterar a configuração do mesmo (CASTRO; RUIZ-JIMÉNEZ, 2013).

Pode-se então resumir o processo FIA em três etapas:

- Amostragem, dissolução, reações químicas e transporte até o detector;
- Determinação dos analitos e
- Processamento e análise dos dados.

Figura 6 – Representação de um sistema FIA.



(A) Após ser selecionado um volume de solução da amostra, o mesmo é introduzido em uma solução carregadora C. (B) Imediatamente, forma-se uma zona de amostra que sofre dispersão enquanto é transportada em direção ao detector D. (C) No ponto X ocorre adição de um ou mais reagentes R. Fonte:(PECCIN, 2004).

Contudo, a grande aceitação deste processo de análise química deve-se à simplicidade da instrumentação, à versatilidade do módulo de análise e à economia de reagentes. Além disso, as reações químicas ocorrem em um ambiente fechado, o que é uma vantagem adicional, pois diminui os riscos de contaminação (KRONKA *et al.*, 1997).

A combinação da técnica FAAS a sistemas FIA apresentam algumas vantagens, principalmente, nos procedimentos relacionados à separação e pré-concentração (ROSSI *et al.*, 2017). Dada a possibilidade de separação da matriz e de pré-concentração do analito com o sistema FIA-FAAS, obtém-se limites de detecção compatível com outras técnicas e ainda possui a vantagem de ser instrumentalmente mais barata.

## 2.8 Extração e pré-concentração por ponto nuvem

A necessidade de monitorar metais presentes em amostras alimentícias, biológicas e ambientais requer procedimentos analíticos sensíveis, logo, as etapas de extração e pré-concentração são consideradas ferramentas úteis na melhoria da sensibilidade das técnicas analíticas.

Entre as técnicas clássicas de extração, pode-se citar a extração líquido-líquido, líquido-sólido, co-precipitação e a troca iônica. Tais técnicas apresentam simplicidade e facilidade de manuseio (PŁOTKA-WASYLK A *et al.*, 2017; RODRÍGUEZ *et al.*, 2016), no entanto, a extração líquido-líquido requer o uso de solventes que são tóxicos e de alto custo, elevado tempo de análise e baixa sensibilidade para analitos mais voláteis (LIU *et al.*, 2016). Já a extração em fase sólida tem como desvantagem a saturação dos sítios adsorventes e, consequentemente, falta de reproduzibilidade (MAHARA; BOROSSAY; TORKOS, 1998).

A extração por membrana (SAJID, 2017; VÅRDAL *et al.*, 2017), a microextração em fase sólida (CHMIEL *et al.*, 2017; TYBURSKA; JANKOWSKI; RODZIK, 2011) e a microextração líquido-líquido (LIU *et al.*, 2015; SHAMSIPUR *et al.*, 2014) são alguns métodos alternativos utilizados para extração.

Outro método alternativo à extração líquido-líquido e que vem se destacando para pré-concentração e extração em química analítica é o uso de micelas de surfactante (PALEOLOGOS, 2017; YANG *et al.*, 2016). Essa metodologia é conhecida como extração por ponto nuvem ou extração intermediada por micelas (*micellemediated extraction*) e tornou-se muito conveniente, pois elimina o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos e apresenta altos valores de pré-concentração (KENAWY *et al.*, 2016).

Surfactantes são compostos químicos anfifílicos, em que uma das partes (a cabeça) é polar ou hidrofílica e a outra (a cauda) é apolar ou hidrofóbica. A cauda é geralmente uma cadeia de hidrocarbonetos com números diferentes de átomos de carbono, podendo ser linear ou ramificada (LI *et al.*, 2017). Os surfactantes podem ser classificados como iônicos (com cargas positivas ou negativas), não iônicos (não possuem cargas) ou anfóteros (possuem cargas positiva e negativa). A Tabela 2 indica os principais surfactantes utilizados na extração em ponto nuvem.

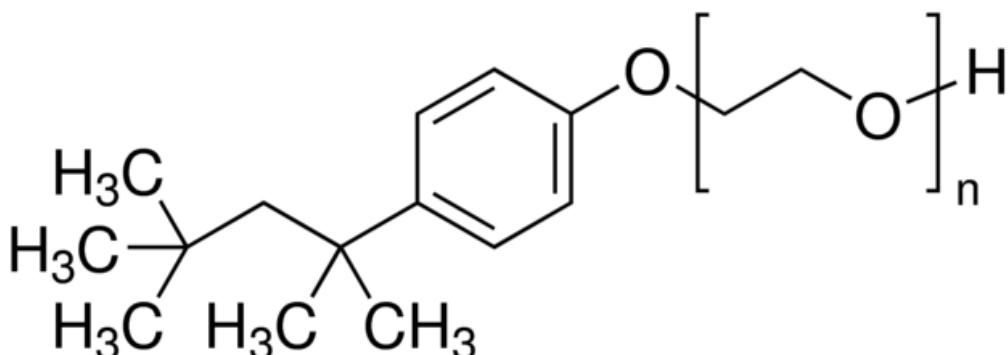
Tabela 2 – Surfactantes de uso comum em Química Analítica.

<b>Tipo</b>	<b>Surfactante</b>
Aniônicos	Dodecil sulfato sódico (SDS)
	DiHexadecil fosfato (DHF)
Não iônicos	Octilfenoxipolietoxietano (Triton X-114)
	Octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-110)
Anfóteros	4-(dodecildimetil amônio) butirato (DAB)
	3-(dodecildimetil amônio) propano 1-sulfato (SB-12)

Características importantes de um surfactante para ser empregado em CPE são baixa temperatura de ponto nuvem, alta densidade e baixo custo. Dentre os surfactantes citados, o Triton X-114, Figura 7, oferece essas condições, sendo bastante utilizado em CPE.

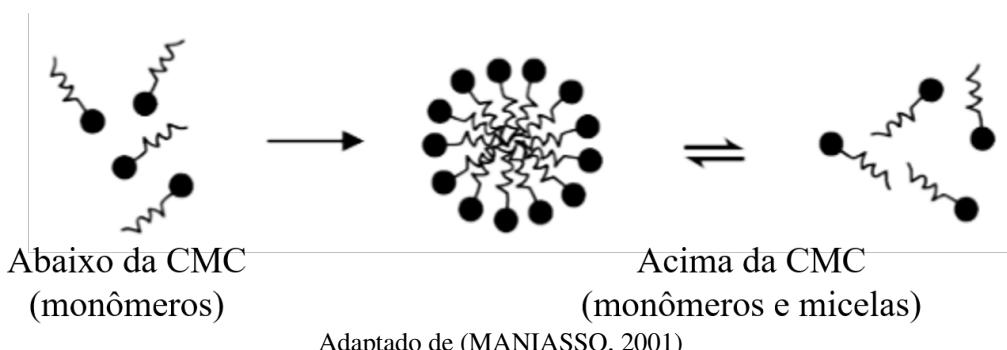
Os surfactantes podem formar micelas (agregados moleculares de tamanho coloidal) quando a concentração é aumentada até certo valor limiar, chamado de concentração micelar crítica (CAO *et al.*, 2017). Abaixo da CMC, o tensoativo está predominantemente na forma

Figura 7 – Estrutura do surfactante Triton X-114.



de monômeros, porém, quando a CMC é ultrapassada, existe um equilíbrio dinâmico entre monômeros e micelas, Figura 8.

Figura 8 – Formação do agregado micelar.

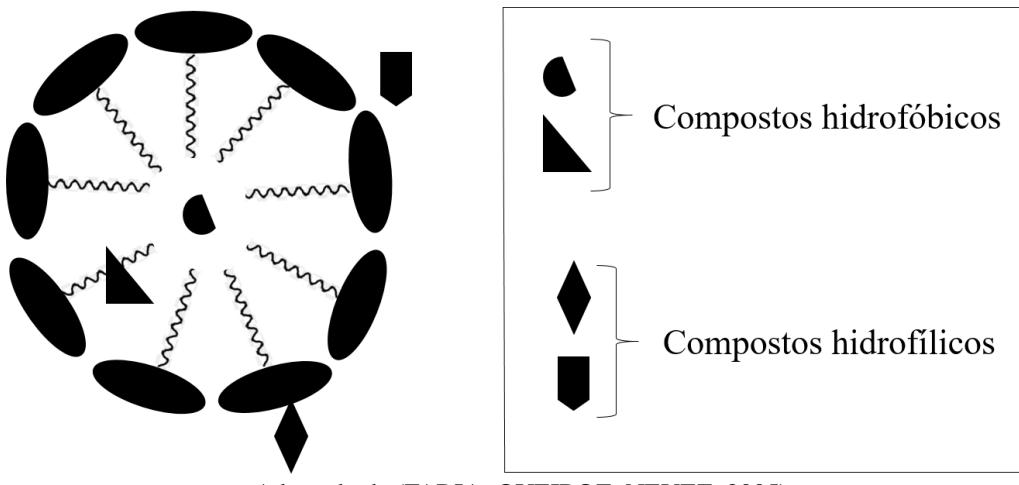


O uso de surfactantes não iônicos oferece vantagem em relação à toxicidade, pois em sua grande maioria, são classificados como não tóxicos e inofensivos ao homem. Os surfactantes não iônicos da classe dos polioxietilenados são parcialmente biodegradáveis por bactérias do gênero *Pseudomonas* de origem marinha. A toxicidade para o homem e a biodegradabilidade dos surfactantes são ainda objeto de estudos (LEE; KWEON; KIM, 2013).

Na CPE, a solução aquosa de um surfactante torna-se turva por adição de uma substância apropriada ou por alteração na temperatura, na força iônica do meio ou na pressão. Neste ponto, a solução se separa em uma fase de pequeno volume e rica em surfactante (fase rica), contendo os componentes extraídos da solução e em uma fase de grande volume (fase pobre), contendo uma concentração de surfactante próxima a Concentração Micelar Crítica (CMC) (SAMADDAR; SEN, 2014). Sua aplicação analítica está condicionada à capacidade do analito de interesse associar-se às micelas, ou de ser dissolvido em seu interior orgânico, conforme Figura 9.

Com relação à CPE, Watanabe e Tanaka (1978) foram os primeiros a desenvolver o processo usando a indução da temperatura na separação de fases para concentrar complexos metálicos pouco solúveis em água. O tensoativo polioxietileno nonil fenil eter (PONPE - 7.5) foi empregado para a determinação de zinco em águas naturais, o qual foi complexado pelo PAN 1-(2-piridilazo)-2-naftol e extraído da solução pelo aparecimento de duas fases à temperatura ambiente

Figura 9 – Possíveis interações entre o analito e a micela de surfactante.



Adaptado de (FARIA; QUEIROZ; NEVEZ, 2005)

após 8 minutos de centrifugação a 4000 rotações por minuto (rpm). O fator de pré-concentração foi de aproximadamente 25 vezes e o sistema de detecção empregado foi espectrofotométrico ( $\lambda=555$  nm).

Ulusoy *et al.* (2011) empregaram CPE para separar e pré-concentrar espécies de arsênio em amostras de água, para posterior quantificação por HG AAS. Já Erdogan, Yalcinkaya e Turker (2011), utilizaram a pré-concentração em fase sólida, usando um adsorvente híbrido de nano partículas de dióxido de zircônio e óxido de boro para especiação e determinação de As(III), As(V) e As<sub>7</sub> em amostras de água por HG AAS.

Contudo, a Análise por Injeção em Fluxo – Geração de Hidretos – Espectrometria de Absorção Atômica após a extração por ponto nuvem (CPE-FIA-HG-AAS) é uma combinação atrativa devido à sua relativa simplicidade e alta sensibilidade comparado à espectrometria de massa com ionização por electrospray e ablação a laser. Além disso, outros benefícios como a introdução direta da amostra, volume reduzido da mesma, diminuição da possibilidade de contaminação e interferentes devem ser levados em consideração quando comparados aos procedimentos convencionais em batelada (HANNA; TYSON; MCINTOSH, 1993; BALUJA-SANTOS; GONZALEZ-PORTAL, 1992).

## 2.9 Procedimentos de otimização em química

Nos dias atuais, o avanço da pesquisa científica tem gerado uma gama crescente de dados e informações, sendo que para a devida exploração e melhor entendimento, a aplicação de ferramentas estatísticas torna-se indispensável.

A otimização de parâmetros experimentais é uma das etapas mais críticas do trabalho científico e, para isso, alguns fatores devem ser levados em consideração, tais como: as variáveis relevantes, os valores que devem ser estudados, a ordem de estudo das variáveis, a melhor resposta a ser analisada, entre outros.

Na maioria dos procedimentos, a otimização é realizada de maneira univariada, isto é, o clássico sistema de otimizar uma variável por vez. Neste método, um fator sofre variação enquanto os outros fatores são fixos. Quando a melhor resposta é encontrada, um novo fator sofre variação. Obviamente, este tipo de trabalho envolve um grande número de experimentos até fornecer condições que permitem um valor otimizado da resposta, pois o processo é feito para todos os fatores. No entanto, por negligenciar a interação entre as variáveis, o resultado obtido algumas vezes não corresponde às condições que levam ao ótimo verdadeiro (EIRAS *et al.*, 2000).

Diante deste contexto, os sistemas multivariados de otimização têm sido bastante utilizados, demonstrando a sua utilidade nos mais variados campos do conhecimento. A otimização multivariada avalia simultaneamente todos os fatores e as suas interações (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001) e dentre as várias alternativas existentes, destaque pode ser dado aos sistemas de planejamento fatorial, os quais permitem avaliar simultaneamente o efeito das variáveis, a partir de um número reduzido de ensaios experimentais.

Para se obter a otimização de um dado experimento inicialmente é realizada uma triagem, utilizando planejamentos fatoriais completos ou fracionários com o interesse de determinar as variáveis experimentais e as interações entre variáveis que têm influência significativa sobre as diferentes respostas.

Um planejamento fatorial completo consiste basicamente em avaliar os efeitos que as variáveis, também chamadas de fatores, exercem uma sobre a outra e sobre o resultado final. Isto é feito de forma que as variáveis variem com pelo menos dois níveis ( $n$ ) diferentes, ou seja, para  $k$  fatores e  $n \geq 2$ , tem-se:  $n^k$  experimentos, sendo que para dois níveis tem-se  $2^k$  (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001). Os experimentos são organizados de forma a se obter todas as combinações entre os níveis e os fatores estudados. Os níveis dos fatores quantitativos são nomeados pelos sinais – (menos) para o nível mais baixo e + (mais) para o nível mais alto (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

No planejamento fatorial completo o número de ensaios cresce a cada fator adicionado. Para experimentos com quatro ou mais variáveis, as interações de 3 ou mais fatores não são consideradas significativas porque é pouco provável que três ou mais fatores interajam simultaneamente para influenciar a resposta e também o número de experimentos tornam-se muito grande. Sendo assim, o planejamento fatorial fracionário é utilizado de maneira semelhante ao fatorial completo, onde o número de ensaios é dado por  $2^{k-1}$  para dois níveis estudados (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

Para se obter respostas significativas é necessário fazer um levantamento preliminar das variáveis mais significativas e identificar os níveis mais adequados para cada fator. A indicação dos efeitos dos fatores selecionados, bem como os efeitos de suas interações, são melhor visualizados e podem ser interpretados em um gráfico de Pareto. A importância de cada fator é avaliada através do comprimento da barra, assim como as interações entre os fatores. A

linha de corte indica o limite de significância, abaixo do qual a variável pode ser considerada insignificante ou sem influência no experimento.

Após a realização dos experimentos do planejamento fatorial, os resultados são avaliados utilizando um programa computacional. De posse dos resultados obtidos, uma das metodologias que se pode utilizar é um Planejamento Composto Central, também chamado de *Central Composite Design* (CCD). Esta metodologia baseia-se na modelagem de uma superfície de resposta empregando funções polinomiais (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001), que informa as condições ótimas das variáveis estudadas.

A análise da superfície de resposta pode indicar duas situações: uma delas, é a função apresentar um máximo ou um mínimo (ponto crítico), concluindo então o processo de otimização. A outra é observar que a superfície não apresenta um ponto crítico (ponto de cela) e nesse caso, deve-se localizar uma nova região experimental de onde um novo planejamento deverá ser construído. Além disso, a análise de superfície de resposta permite avaliar o comportamento da resposta do sistema em função de um intervalo dos fatores estudados.

Portanto, o uso de planejamentos em Química bem como em outras áreas é fundamental para uma visão mais detalhada das variáveis que realmente podem afetar o experimento realizado e possibilitando uma melhor compreensão do que ocorre no experimento.





## OBJETIVOS

---

---

### 3.1 Geral

Desenvolver um procedimento analítico simples, rápido e confiável, para a extração seletiva de As(III) e determinação de arsênio total em amostras de sedimentos a partir da extração e pré-concentração por ponto nuvem utilizando geração de hidretos por análise em fluxo.

### 3.2 Específicos

- Desenvolver um método analítico baseado na otimização de variáveis para extração e pré-concentração de As(III) por ponto nuvem sem a necessidade de aquecimento;
- Otimizar as variáveis do sistema de injeção em fluxo para a geração de hidretos;
- Propor um método que pode ser utilizado para discriminar os teores de As(III) e As(V) por meio da extração seletiva e, com isso, obter informações da concentração desse contaminante em diferentes amostras.





## PARTE EXPERIMENTAL

---



---

### 4.1 Equipamentos e acessórios

Todos os experimentos foram realizados em um espectrômetro de absorção atômica com chama modelo SpectrAA-220 (Varian<sup>®</sup>, Austrália) e utilizando N<sub>2</sub> como gás de arraste.

O espectrômetro de absorção atômica equipado com lâmpada de deutério para correção de fundo, foi utilizado com:

- Lâmpada de catodo oco de As (Agilent Technologies, Austrália).
- Chama de ar/acetileno.
- Computador equipado com o software do fabricante para visualização dos valores de absorbância.

Os parâmetros instrumentais utilizados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros instrumentais para a determinação de As.

<b>Parâmetro</b>	<b>As</b>
Comprimento de onda (nm)	193,70
Largura da fenda espectral (nm)	0,50
Corrente da lâmpada (mA)	10,00
Vazão de ar (mL.min <sup>-1</sup> )	13,50
Vazão de acetileno (mL.min <sup>-1</sup> )	2,45

O sistema de geração de hidreto e de análise em fluxo foi composto por:

- Bomba peristáltica Gilson<sup>®</sup> Minipuls 3 (França), equipada com oito canais, usada para bombear as soluções através do sistema.

- ✓ Tubos Tygon® roxo-preto (diâmetro interno= 2,20 mm).
- ✓ Confluência de acrílico.
- ✓ Três válvulas solenoides de três vias (NResearch, Estados Unidos).
- ✓ Software de código fonte aberto utilizado na plataforma do Arduíno com entrada USB para computador (software usado para controlar o tempo de abertura e desligamento das válvulas solenoides).
- ✓ Cela de quartzo em formato de T (13,5 cm de comprimento e 15 mm de diâmetro externo) aquecida em chama.

Foi usada uma centrífuga modelo KC5 (Kindly, Brasil) e os valores de pH foram medidos com um pHmetro Digital Tecnal (Brasil).

## 4.2 Reagentes e soluções

As soluções foram preparadas com água deionizada de alta pureza obtida pelo sistema de purificação GEHAKA, Brasil. Os frascos plásticos, bem como todas as vidrarias utilizadas nos experimentos foram previamente lavados e descontaminados em banho de  $\text{HNO}_3$  (Merck) 10% v/v por 24 horas. Posteriormente, os materiais foram lavados várias vezes com água deionizada e secos à temperatura ambiente.

- ✓ **Solução padrão de As(III) 1000 mg.L<sup>-1</sup>**

A solução foi preparada dissolvendo a quantidade apropriada de  $\text{NaAsO}_2$  (Vetec) em 25 mL de  $\text{NaOH}$  (Synth) 0,18 mol.L<sup>-1</sup> e, em seguida, acidificada com 25 mL de  $\text{HCl}$  (Scharlau) 0,3 mol.L<sup>-1</sup>. Este procedimento evita conversão de As(III) em As(V) (BATISTA, 2012). As soluções de trabalho foram preparadas por diluições apropriadas da solução estoque.

- ✓ **Solução padrão de As(V) 1000 mg.L<sup>-1</sup>**

A solução foi preparada dissolvendo a quantidade apropriada de  $\text{AsHNa}_2\text{O}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Vetec) em água. As soluções de trabalho foram preparadas por diluições apropriadas da solução estoque.

### ➤ Solução de APDC

O complexante Pirrolidina Ditiocarbamato de Amônio (APDC) (Fluka Analytical) e suas soluções foram preparadas no dia da análise em quantidades apropriadas por dissolução em água deionizada.

### ➤ Solução de Triton X-114

Devido as suas características já mencionadas, o Triton X-114 (Sigma-Aldrich) foi escolhido como surfactante para formação do ponto nuvem. As soluções foram preparadas no dia da análise em quantidades apropriadas por dissolução em água deionizada.

### ➤ Solução de NaCl

O cloreto de sódio - NaCl (Synth) - foi escolhido como eletrólito com a finalidade de estimular a formação do ponto nuvem e eliminar a necessidade de aquecimento. Suas soluções foram preparadas no dia da análise em quantidades apropriadas dos reagentes em água deionizada.

### ➤ Solução de antiespumante

Pelo fato do procedimento proposto utilizar a técnica HG AAS, é necessário eliminar a formação de espumas devido a presença do surfactante. Sendo assim, soluções de antiespumante (emulsão não-iônica à base de silicone) (Sigma-Aldrich) foram preparadas no dia da análise em HCl 1 mol.L<sup>-1</sup>.

### ➤ Solução de HCl

O ácido clorídrico - HCl (Dinâmica) - foi utilizado na preparação das soluções de antiespumante, e como reagente para geração do hidreto. As soluções foram preparadas no dia da análise em quantidades apropriadas dos reagentes em água deionizada.

### ➤ Solução de NaBH<sub>4</sub>

As soluções de NaBH<sub>4</sub> (Vetec) foram preparadas em meio alcalino 0,5% m/v, solução de hidróxido de sódio - NaOH (Synth) - no dia da análise.

## ✓ Amostras

As amostras fornecidas pelo professor Dr. Joselito Nardy Ribeiro, da Universidade Federal do Espírito Santo, foram coletadas na Região do Rio Doce, nos dias 18/11/2014 e 27/11/2015, ambas nos mesmos pontos, conforme Tabela 4.

Tabela 4 – Referenciais de localização dos pontos de coleta.

Ponto	Latitude	Longitude
1	19°33'32.36"S	39°50'39.96"O
2	19°34'27.64"S	39°48'42.60"O
3	19°37'29.91"S	39°48'50.27"O
4	19°38'35.84"S	39°48'52.02"O
5	19°39'5.36"S	39°48'49.90"O
6	19°39'17.44"S	39°49'33.38"O

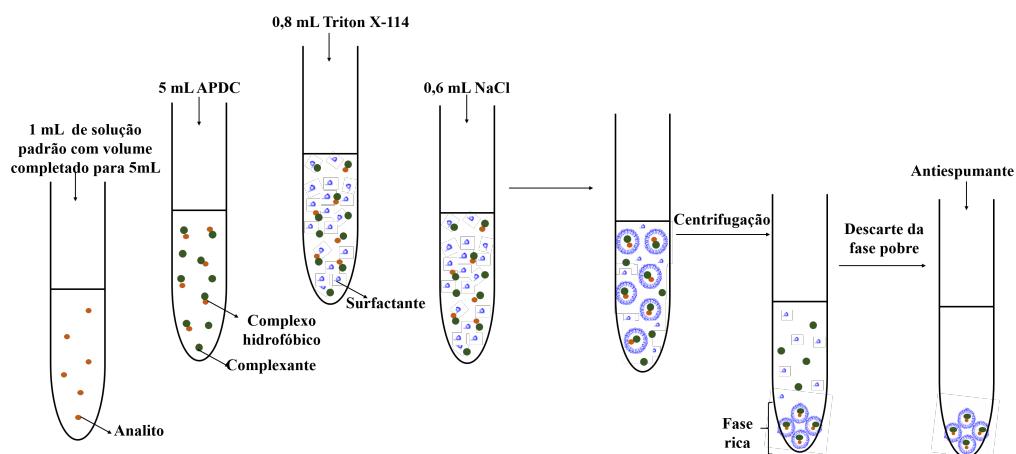
Em cada ponto foi coletado aproximadamente 1 kg de material e a profundidade máxima atingida no sedimento foi de 10 cm. O material foi acondicionado em sacos plásticos e refrigerado a aproximadamente 4°C até o laboratório.

## 4.3 Procedimento experimental

### 4.3.1 Procedimento geral

O experimento foi realizado em tubos de centrífuga de 15 mL, conforme representado na Figura 10.

Figura 10 – Etapas de formação do ponto nuvem.



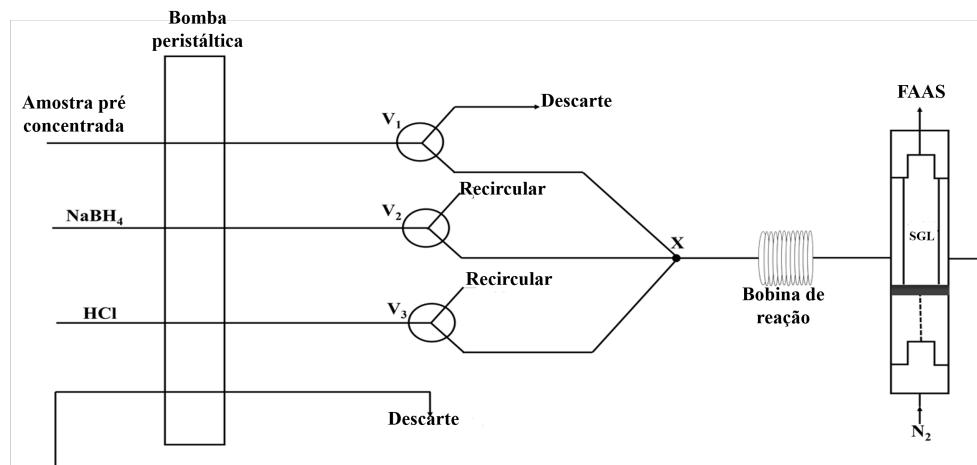
Fonte: (Autor).

Neste tubo adicionou-se a solução de arsênio e de complexante, sendo agitado e, após a complexação adicionou-se soluções do surfactante e do eletrólito, sendo novamente agitado. Em seguida, o tubo foi levado à centrífuga com rotação de 3000 rpm pelo tempo de 10 minutos para garantir a separação das fases. Feito isso, o tubo foi colocado em um congelador por 15 minutos

para aumentar a viscosidade da fase rica e facilitar a retirada da fase pobre. Após a separação das fases, antiespumante foi adicionado para diluição da fase rica (até completar o volume de 1mL) e para evitar a formação de espuma no sistema de detecção.

Após a extração e pré concentração, foi realizado o procedimento de geração de hidreto por injeção em fluxo, como representado na Figura 11.

Figura 11 – Sistema de análise em fluxo.



SGL: separador gás-líquido; V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub>, V<sub>3</sub>: válvulas solenoides; X: confluência

Fonte: (Autor).

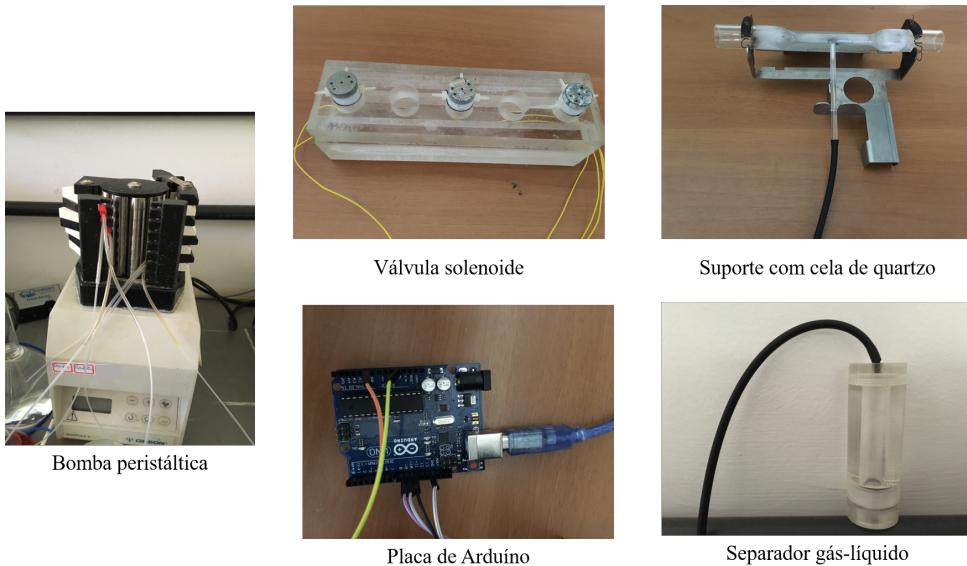
O sistema multicomutado era composto por três válvulas solenoides de três vias, que foram controladas por um programa Arduino. Neste sistema, as frações da amostra (V<sub>1</sub>), do boro hidreto (V<sub>2</sub>) e do ácido (V<sub>3</sub>) foram injetadas e se encontraram em uma zona de confluência X, passando por uma bobina de reação onde ocorreu a formação do hidreto volátil, que foi transportado até o separador gás-líquido. Já no separador, a arsina (AsH<sub>3</sub>), foi arrastada pelo N<sub>2</sub> até o atomizador (cela de quartzo em formato de T) do espectrômetro de absorção atômica com chama para atomização e geração do sinal analítico que foi medido pela altura do pico.

A multicomutação possibilita estratégias utilizando a injeção em fluxo gerando pequenas quantidades de resíduos, umas vez que são requeridas pequenas quantidades de amostra e reagentes.

A Figura 12 apresenta os acessórios utilizados no sistema de geração de hidreto por injeção em fluxo.

Em um separador vertical, os fluidos entram através de um dispositivo de entrada com o objetivo de alcançar um separação eficiente do líquido e do gás, melhorando a distribuição do fluxo de ambas as fases através do separador (BAHADORI, 2014). O líquido removido pelo dispositivo de entrada é então direcionado para o descarte, enquanto que o hidreto formado é conduzido ao atomizador (cela de quartzo).

Figura 12 – Acessórios utilizados no sistema em fluxo e geração de hidreto.



Fonte: (Autor).

### 4.3.2 Estudo do modo de injeção no sistema FIA

Empregando o programa do Arduíno, as válvulas foram acionadas de acordo com sua programação e foi avaliado dois arranjos experimentais para injeção dos reagentes e da solução padrão de arsênio (sem a etapa de pré concentração). Para a injeção sequencial, Tabela 5, pequenas frações da solução da amostra, do borohidreto e do ácido foram inseridas alternadamente no percurso analítico e para a injeção simultânea, Tabela 6, a injeção da amostra e do borohidreto foram ativadas juntas e depois a terceira válvula foi ativada. O tempo de acionamento das válvulas e a vazão de bombeamento determinam o volume de cada alíquota.

Tabela 5 – Etapas para operação do modo de injeção sequencial.

Etapa	Tempo (s)	Válvula		
		V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>3</sub>
I	5	ON	OFF	OFF
II	5	OFF	ON	OFF
III	5	OFF	OFF	ON

Tabela 6 – Etapas para operação do modo de injeção simultânea.

Etapa	Tempo (s)	Válvula		
		V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>3</sub>
I	5	ON	ON	OFF
II	5	OFF	OFF	ON

O estudo foi baseado na construção de curvas analíticas com valores entre 0 e 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , com variação de 10 unidades de concentração de As(III). Para este estudo, foram utilizados NaBH<sub>4</sub> 0,5% m/v, HCl 1 mol.L<sup>-1</sup> e comprimento da bobina igual a 20 cm.

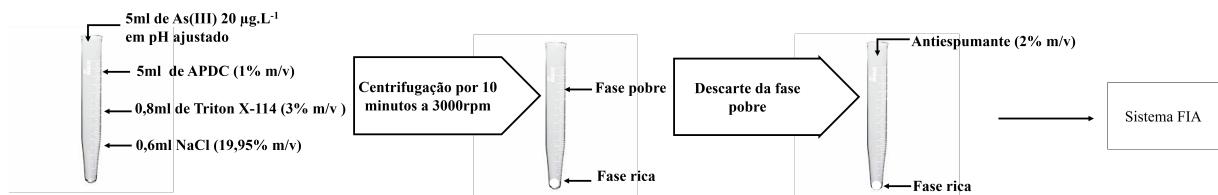
### 4.3.3 Influência do pH na formação do complexo

A influência do pH na extração foi estudada na faixa entre 1,0 e 7,0. Para adequação do pH foi empregado solução diluída tanto de HNO<sub>3</sub> quanto de NH<sub>4</sub>OH.

A escolha do complexante neste trabalho, foi baseada em estudos de especiação de arsênio inorgânico utilizando APDC (DONAHUE *et al.*, 2014), bem como em estudos baseados na formação do complexo hidrofóbico devido à sua afinidade com As(III) (WELNA; BORKOWSKA-BURNECKA; POPKO, 2015).

Para a formação do ponto nuvem e consequente extração do complexo formado, o experimento foi realizado utilizando os volumes e concentrações indicados na Figura 13.

Figura 13 – Representação do procedimento para extração do complexo por ponto nuvem.



Fonte: (Autor).

A Tabela 7 indica a concentração final de arsênio em 10 mL de solução (volume do analito + volume do complexante) e de Triton X-114 e NaCl, considerando o volume total de 11,4 mL (volume do analito + volume do complexante + volume de surfactante + volume do eletrólito). Apresenta também as condições no sistema de geração de hidreto por injeção em fluxo.

Tabela 7 – Condições experimentais no estudo do pH.

Condições experimentais	
As(III)	10 µg.L <sup>-1</sup>
APDC	0,50 % m/v
Triton X-114	0,21 % m/v
NaCl	1,0 % m/v
NaBH <sub>4</sub>	0,50 % m/v
HCl	1,0 mol.L <sup>-1</sup>
Comprimento da bobina	20 cm

O sinal analítico foi acompanhado pelo sistema FIA-HG AAS, utilizando o modo de injeção que apresentou melhor resultado, mantendo o tempo de abertura das válvulas igual a 5 segundos.

### 4.3.4 Otimização do procedimento ponto nuvem

A otimização do experimento foi iniciada pela escolha das variáveis de interesse: APDC, Triton X-114, NaCl e antiespumante. As concentrações de APDC e Triton foram baseadas em

trabalhos da literatura: análise de especiação de arsênio inorgânico por ponto nuvem em amostras de água por espectrometria de fluorescência atômica e geração de hidreto (LI *et al.*, 2015) e aplicações ambientais envolvendo a extração por ponto nuvem (YAMINI; GHAMBARIAN, 2012). A concentração de NaCl foi baseada no estudo de Coelho e Arruda (2005) para determinação de cádmio por espectrometria de absorção atômica em chama utilizando a extração por ponto nuvem na presença de eletrólito e a concentração de antiespumante foi escolhida a partir de experimentos prévios para a concentração mínima que evitasse a formação de espuma no separador gás-líquido.

Para avaliar a melhor condição a ser empregada na formação do ponto nuvem, foi realizado um planejamento fatorial  $2^4$  completo (em triplicatas), para verificar a influência das concentrações de APDC (0,10 e 0,50% m/v), Triton X-114 (0,02 e 0,21% m/v), NaCl (0,52 e 1,0% m/v) e Antifoam (1,0 e 2,0% m/v). Como o estudo do pH apresentou um ganho significativo de sinal analítico, a concentração de arsênio utilizada neste procedimento foi igual a  $5 \mu\text{g.L}^{-1}$  e no valor de pH que apresentou melhor sensibilidade. Para calcular os efeitos principais e os efeitos de interações das variáveis, foi utilizada uma matriz de contraste. Logo, as variáveis foram codificadas pelos sinais (+) e (-) correspondentes aos níveis estudados (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

Embora o planejamento fatorial com apenas dois níveis para cada variável não explore compressivamente uma grande região para as variáveis, ele pode indicar uma tendência para a realização de novos experimentos, ou seja, é útil para determinar as variáveis que apresentam ou não influência sobre a resposta.

A partir da média entre os valores de cada nível e o valor correspondente à metade da diferença entre os níveis (+) e (-), as variáveis foram escalonadas pelas Equações 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4, (EIRAS *et al.*, 2000).

$$x_1 = \frac{[APDC] - 0,30}{0,20} \quad (4.1)$$

$$x_2 = \frac{[Triton] - 0,11}{0,09} \quad (4.2)$$

$$x_3 = \frac{[NaCl] - 0,78}{0,26} \quad (4.3)$$

$$x_4 = \frac{[Antiespumante] - 1,5}{0,50} \quad (4.4)$$

Os experimentos foram encaminhados conforme a matriz do planejamento fatorial representado na Tabela 8, que mostra todas as possíveis combinações entre os níveis das variáveis estudadas. As leituras foram realizadas aleatoriamente e em triplicata e os resultados obtidos foram tratados estatisticamente com o auxílio de um software.

Tabela 8 – Matriz do planejamento fatorial 2<sup>4</sup> completo para extração por ponto nuvem (n=3).

Experimento	Variáveis escalonadas			
	APDC (% m/v)	Triton X-114 (% m/v)	NaCl (% m/v)	Antiespumante (% m/v)
1	0,10 (-1)	0,02 (-1)	0,52 (-1)	1,0 (-1)
2	0,50 (+1)	0,02 (-1)	0,52 (-1)	1,0 (-1)
3	0,10 (-1)	0,21 (+1)	0,52 (-1)	1,0 (-1)
4	0,50 (+1)	0,21 (+1)	0,52 (-1)	1,0 (-1)
5	0,10 (-1)	0,02 (-1)	1,05 (+1)	1,0 (-1)
6	0,50 (+1)	0,02 (-1)	1,0 (+1)	1,0 (-1)
7	0,10 (-1)	0,21 (+1)	1,0 (+1)	1,0 (-1)
8	0,50 (+1)	0,21 (+1)	1,0 (+1)	1,0 (-1)
9	0,10 (-1)	0,02 (-1)	0,52 (-1)	2,0 (+1)
10	0,50 (+1)	0,02 (-1)	0,52 (-1)	2,0 (+1)
11	0,10 (-1)	0,21 (+1)	0,52 (-1)	2,0 (+1)
12	0,50 (+1)	0,21 (+1)	0,52 (-1)	2,0 (+1)
13	0,10 (-1)	0,02 (-1)	1,05 (+1)	2,0 (+1)
14	0,50 (+1)	0,02 (-1)	1,0 (+1)	2,0 (+1)
15	0,10 (-1)	0,21 (+1)	1,0 (+1)	2,0 (+1)
16	0,50 (+1)	0,21 (+1)	1,0 (+1)	2,0 (+1)

As (III) = 5 μg.L<sup>-1</sup>; NaBH<sub>4</sub> = 0,50 % m/v; HCl = 1,0 mol.L<sup>-1</sup>; comprimento da bobina = 20 cm; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos.

Com os resultados obtidos e sua interpretação pela análise de variância e gráfico de Pareto, foram selecionadas as variáveis a serem otimizadas através da metodologia da superfície de respostas utilizando um planejamento composto com ponto central do tipo estrela (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

A importância de realizar experimentos no ponto central deve-se ao fato que esses resultados fornecem informações relacionadas à curvatura da superfície de respostas e, além disso, permite estimar a repetibilidade das medidas.

As variáveis foram escalonadas de acordo com as Equações 4.5 e 4.6, (EIRAS *et al.*, 2000) e a Tabela 9 apresenta a matriz do planejamento composto 2<sup>2</sup> para todas as combinações possíveis entre as variáveis e com cinco réplicas no ponto central.

$$x_1 = \frac{[APDC] - 0,50}{0,25} \quad (4.5)$$

$$x_2 = \frac{[Antiespumante] - 2,5}{0,50} \quad (4.6)$$

Tabela 9 – Matriz do CCD com ponto estrela para extração por ponto nuvem (n=3).

<b>Experimento</b>	<b>Variáveis escalonadas</b>	
	<b>APDC (% m/v)</b>	<b>Antiespumante (% m/v)</b>
1	0,25 (-1)	2,0 (-1)
2	0,75 (+1)	2,0 (-1)
3	0,25 (-1)	3,0 (+1)
4	0,75 (+1)	3,0 (+1)
5	0,50 (0)	1,7 ( $-\sqrt{2}$ )
6	0,50 (0)	3,2 ( $+\sqrt{2}$ )
7	0,14 ( $-\sqrt{2}$ )	2,5 (0)
8	0,85 ( $+\sqrt{2}$ )	2,5(0)
9	0,50 (0)	2,5 (0)
10	0,50 (0)	2,5 (0)
11	0,50 (0)	2,5 (0)
12	0,50 (0)	2,5 (0)
13	0,50 (0)	2,5 (0)

As (III) = 5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; Triton X-114 = 0,21% m/v; NaCl = 0,52% m/v; NaBH<sub>4</sub> = 0,50% m/v; HCl = 1,0 mol.L<sup>-1</sup>; comprimento da bobina = 20 cm; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos.

#### **4.3.5 Otimização do sistema de geração de hidreto por análise de injeção em fluxo**

Variáveis podem influenciar no procedimento de geração de hidreto por injeção em fluxo, sendo assim, o estudo univariado foi utilizado para a otimização de cada uma das seguintes variáveis: comprimento da bobina de reação, concentração do borohidreto, concentração do ácido (HCl) e vazão da amostra e dos reagentes. O estudo univariado foi aplicado devido à não disponibilidade de bombas peristálticas para alterar simultaneamente a velocidade de rotação da amostra e reagentes, tornando assim, a otimização multivariada impraticável. Diante disso, afim de recuperar alguma informação à respeito das interações entre as variáveis estudadas, foi realizado o estudo do volume da amostra e dos reagentes através da otimização multivariada através de um planejamento composto com ponto central do tipo estrela.

##### ➤ Estudo da concentração de NaBH<sub>4</sub>

Mantendo o tempo de abertura das válvulas igual a 5 segundos, a concentração de As(III) em 5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , de HCl igual a 1 mol.L<sup>-1</sup>, de APDC, NaCl, Triton X-114 e antiespumante, respectivamente, iguais a 0,70, 0,52, 0,21, 2,3% m/v e comprimento da bobina de reação igual a 20 cm, o efeito de diferentes concentrações de borohidreto de sódio foi avaliado na geração seletiva do hidreto de arsênio. Neste estudo, a concentração de NaBH<sub>4</sub> foi avaliada de 0,25 a 0,75% m/v.

### ➤ Estudo da concentração de HCl

A geração de hidreto consiste em converter o analito em compostos voláteis através da reação com um agente redutor ( $\text{NaBH}_4$ ) em meio ácido (HCl). Sendo assim, respostas diferentes são obtidas com relação a eficiência da geração de hidreto em função da concentração de HCl. Para avaliar a influência da concentração de HCl no sistema proposto, sua concentração foi variada de 0 a 13% v/v, mantendo as condições já citadas anteriormente e concentração de  $\text{NaBH}_4$  igual a 0,50% m/v.

### ➤ Estudo do comprimento da bobina de reação

À vazão constante, o comprimento da bobina de reação influencia a cinética da reação através da razão entre amostra e reagente.

Mantendo as condições já citadas anteriormente e concentração de HCl igual a 11% v/v, a influência do comprimento da bobina de reação na formação do hidreto, foi avaliada para comprimentos de 10, 20, 30, 40 e 50 cm, enroladas em tubos de plástico de 1cm de diâmetro.

### ➤ Estudo da vazão da amostra e $\text{NaBH}_4$

Para avaliar a vazão da amostra e redutor ( $\text{NaBH}_4$ ), o modo de injeção simultâneo foi utilizado pois apresentou melhores resultados. Neste sistema, a amostra e redutor são injetados ao mesmo tempo e depois que as válvulas são fechadas é que ocorre a injeção do ácido. Sendo assim, a vazão da amostra e do  $\text{NaBH}_4$  foram avaliadas simultaneamente alterando a velocidade de rotação da bomba peristáltica com vazões no intervalo de 1,5 a 4,5  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  nas condições já otimizadas.

### ➤ Estudo da vazão do HCl

A injeção em fluxo tem como princípio a inserção de uma alíquota da amostra em um fluido transportador, que muitas vezes é fundamental para a ocorrência da reação. Sendo assim, a vazão do HCl não pode ser baixa a ponto de provocar a dispersão da amostra, e nem elevada a ponto de impedir a formação do hidreto. Diante disso, a vazão do HCl foi avaliada no intervalo de 0,7 a 4,5  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  e mantendo a vazão da amostra e redutor igual a 4  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ .

### ➤ Estudo do volume da amostra e reagentes

Para o estudo do volume de amostra e dos reagentes foi realizado um planejamento composto com ponto central do tipo estrela com variação do tempo de abertura das válvulas para obter as condições otimizadas do volume da amostra e dos reagentes.

O tempo de abertura das válvulas foi controlado por computador utilizando um software de código fonte aberto utilizado na plataforma Arduíno. Desta forma, as variáveis foram definidas por modificação no comando informático, o que tornou possível a aplicação de uma mesma montagem a variadas condições e determinações, sem necessidade de reconfigurar fisicamente o sistema.

Para os procedimentos anteriores, o tempo de abertura das válvulas ( $V_1$  = amostra,  $V_2$  =  $\text{NaBH}_4$  e  $V_3$  =  $\text{HCl}$ ) foram fixados em 5 segundos. Neste estudo, o tempo de 5 segundos foi utilizado como ponto central e os níveis (+) e (-) foram avaliados com diferença de uma unidade do ponto central.

Os experimentos foram encaminhados conforme Tabela 10.

Tabela 10 – Matriz do CCD com ponto estrela para avaliação do volume da amostra e reagentes (n=3).

Experimento	Variáveis escalonadas	
	tempo de abertura (s) ( $V_1$ e $V_2$ )	tempo de abertura (s) ( $V_3$ )
1	4,0 (-1)	4,0 (-1)
2	6,0 (+1)	4,0 (-1)
3	4,0 (-1)	6,0 (+1)
4	6,0 (+1)	6,0 (+1)
5	5,0 (0)	$3,6(-\sqrt{2})$
6	5,0 (0)	$6,5(+\sqrt{2})$
7	$3,6(-\sqrt{2})$	5,0 (0)
8	$6,5(+\sqrt{2})$	5,0 (0)
9	5,0 (0)	5,0 (0)
10	5,0 (0)	5,0 (0)
11	5,0 (0)	5,0 (0)
12	5,0 (0)	5,0 (0)
13	5,0 (0)	5,0 (0)

$\text{As(III)} = 5 \mu\text{g.L}^{-1}$ ; APDC = 0,70 % m/v Triton X-114 = 0,21 % m/v;  $\text{NaCl} = 0,52 \% \text{ m/v}$ ; Antiespumante = 2,3 % m/v  $\text{NaBH}_4$  = 0,50 % m/v;  $\text{HCl} = 1,3 \text{ mol.L}^{-1}$ ; comprimento da bobina = 30 cm; vazão da amostra, do  $\text{NaBH}_4$  e do  $\text{HCl} = 4 \text{ mL.min}^{-1}$

#### 4.4 Estudo da seletividade do método

Com as condições otimizadas para o sistema de geração de hidreto por injeção em fluxo, foi avaliada a seletividade do método a partir da comparação dos valores de absorbância tanto para As(III) quanto para As(V) nas concentrações de 0,5; 1,0 e  $5,0 \mu\text{g.L}^{-1}$  afim de verificar a influência da extração da espécie pentavalente sobre o método desenvolvido para a espécie trivalente.

## 4.5 Teste de interferentes

O comportamento de As (III) na presença de íons interferentes foi avaliado com procedimento univariado. O estudo foi realizado através de soluções sintéticas, ou seja, soluções de As(III) na concentração de  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$  foi fixada e concentrações crescentes dos interferentes - Fe(III), Hg(II), Ni(II), Co(II), Cu(II), Zn(II) e Pb(II) - nas proporções de 1:5, 1:10, 1:100, 1:500 e 1:1000 foram testadas individualmente.

## 4.6 Figuras de mérito

Uma vez definidos os parâmetros de operação, o desempenho analítico do método foi avaliado por meio de alguns parâmetros.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados a partir da estimativa do desvio padrão ( $s$ ) do valor de absorbância de dez brancos analíticos, Equações 4.7 e 4.8, em que  $\alpha$  é o coeficiente angular da reta. Esses valores expressam, respectivamente, o menor valor de concentração que pode ser detectado pelo método e a menor concentração que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão (INMETRO, 2011).

$$LD = \frac{3.s}{\alpha} \quad (4.7)$$

$$LQ = \frac{10.s}{\alpha} \quad (4.8)$$

A precisão que define a concordância de medidas independentes feitas sob as mesmas condições foi avaliada pelo Desvio Padrão Relativo (DPR) para 10 ensaios realizados sequencialmente no mesmo dia.

O fator de enriquecimento foi obtido pela razão entre os coeficientes angulares das curvas com e sem o procedimento de extração por ponto nuvem, com o objetivo de determinar a eficiência da pré-concentração.

A exatidão foi avaliada com os resultados obtidos por meio da adição e recuperação de As(III) em amostras fortificadas com  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$  de As(III).

## 4.7 Procedimento analítico para a determinação de arsênio inorgânico

### 4.7.1 Preparo das amostras

Para a quantificação das espécies inorgânicas de arsênio, foi pesado 1,00 g de sedimento e colocado em frascos de polipropileno, no qual foi adicionado 1mL de peróxido de hidrogênio

8,8 mol.L<sup>-1</sup> para prévia digestão da matéria orgânica, deixando em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente. Logo após, foi adicionado 10 mL de água régia (HCl:HNO<sub>3</sub>, 1:3 v/v) e a amostra foi então levada ao sistema de digestão em forno de microondas, modelo Mars6, seguindo o programa de digestão descrito na Tabela 11 (SILVA, 2009).

Tabela 11 – Programa de digestão das amostras em forno de microondas

<b>Etapas</b>	<b>Potência (W)</b>	<b>Tempo (min)</b>
1	400	05
2	600	10
3	400	05
4	000	10

A amostra foi centrifugada e o sobrenadante foi filtrado e recolhido em um balão volumétrico de 50 mL que teve seu volume completado com água deionizada. A solução foi armazenada em frasco de polietileno à ± 4 °C até leitura dos sinais analíticos na metodologia CPE-FIA-HG FAAS.

#### **4.7.2 Determinação de arsênio total**

O procedimento para a determinação de arsênio total foi aplicado nas amostras de sedimentos após uma etapa de redução das espécies de arsênio a As(III). Neste trabalho foram avaliados os pré-redutores tiosulfato de sódio, tioureia, L-cisteína e cloridrato de hidroxilamina. O estudo foi realizado comparando a absorbância da arsina gerada a partir do As(III) em concentração igual a 5 µg.L<sup>-1</sup> sem pré-redutores e da arsina gerada a partir da mistura de As(III) e As(V) em concentração igual a 2,5 µg.L<sup>-1</sup> para ambas as espécies em diferentes concentrações do pré-redutor (0,10; 0,50; 1,0; 3,0 e 5,0% m/v).

Foi adicionado o pré-redutor que apresentou melhor resultado em sua respectiva concentração à solução do extrato após a digestão da amostra e foi feito o ajuste de pH para 1,8, seguindo o procedimento do ponto nuvem e sistema de geração de hidreto por injeção em fluxo.

#### **4.7.3 Determinação de As(III)**

Para a determinação de As(III) utilizando as condições otimizadas propostas neste trabalho, deve-se utilizar a solução do extrato obtido na digestão da amostra e o pH ser ajustado a 1,8 e seguir o procedimento do ponto nuvem e sistema de geração de hidreto por injeção em fluxo.

#### **4.7.4 Determinação de As(V)**

A concentração de As(V) é determinada pela diferença do As total e As(III).



## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Estudo do modo de injeção no sistema FIA

Os procedimentos em fluxo são mais recomendados para o manuseio automatizado de amostras líquidas, uma vez que as operações individuais de um protocolo de ensaio são ligadas por uma corrente portadora em fluxo, ou seja, as amostras sofrem processamentos semelhantes: são introduzidas sucessivamente no sistema analítico no mesmo ponto, encontram reagentes nas mesmas circunstâncias e percorrem um percurso idêntico até à detecção.

Durante o seu percurso, a amostra pode ser submetida a processos físicos, químicos ou físico-químicos. Outros líquidos transportadores podem eventualmente juntar-se ao primeiro em diferentes pontos compreendidos entre a injeção e o detector originando uma zona reacional. Tratando-se da análise em fluxo, todas as operações refletem em uma dispersão-diluição da amostra no líquido carregador e tem como objetivo proporcionar as condições que permitam a detecção específica de um dos constituintes da amostra quando essa atravessar o detector (RUZICKA, 2016).

À medida que a amostra se movimenta no sistema, um gradiente de concentração (alteração no valor da concentração de determinada substância por unidade de espaço) é gerado por reação química ou dispersão física. Sabendo que a metodologia é baseada no controle da dispersão da amostra no fluxo transportador, a dispersão da amostra é um fator importante para a otimização dos sistemas em fluxo. Por isso, o modo de injeção da amostra e dos reagentes no sistema de análise por multicomutação foi estudado com o objetivo de obter as melhores condições de detectabilidade.

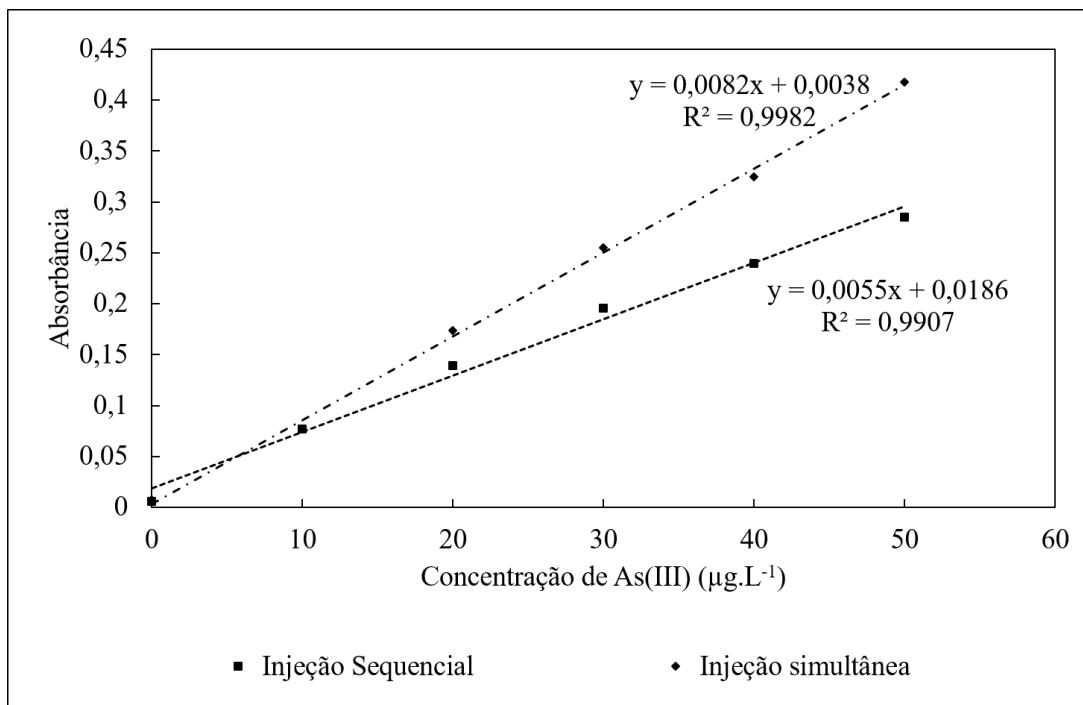
As curvas analíticas de calibração para a injeção sequencial e a injeção simultânea, mostradas na Figura 14, foram construídas a partir dos valores de absorbância apresentados na Tabela 12.

Observa-se que quando a solução da amostra, do NaBH<sub>4</sub> e do HCl foram inseridas

Tabela 12 – Estudo do modo de injeção no sistema FIA.

Concentração de As(III) ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Absorbância	
	Injeção sequencial	Injeção simultânea
0	0,0059 ( $\pm 0,0034$ )	0,0073 ( $\pm 0,0024$ )
10	0,0774 ( $\pm 0,0041$ )	0,0770 ( $\pm 0,0037$ )
20	0,1390 ( $\pm 0,0035$ )	0,1739 ( $\pm 0,0026$ )
30	0,1960 ( $\pm 0,0033$ )	0,2550 ( $\pm 0,0037$ )
40	0,2400 ( $\pm 0,0051$ )	0,3249 ( $\pm 0,0044$ )
50	0,2850 ( $\pm 0,0047$ )	0,4177 ( $\pm 0,0034$ )

Figura 14 – Estudo do modo de injeção no sistema FIA.



$\text{NaBH}_4 = 0,50\% \text{ m/v}$ ;  $\text{HCl} = 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ ; comprimento da bobina = 20 cm; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos. Fonte: (Autor).

alternadamente no percurso analítico (injeção sequencial), o valor de absorbância foi menor que quando a amostra de As(III) e do  $\text{NaBH}_4$  foram injetadas juntas e posteriormente injetou-se a solução do HCl (injeção simultânea). A diferença entre as respostas do modo de injeção e sequencial e simultânea apresentaram uma diferença de até 32% maior para a última. Além disso, a inclinação das retas mostram que a sensibilidade no modo de injeção simultânea foi maior que da injeção sequencial. Logo, a formação do hidreto volátil ( $\text{AsH}_3$ ) foi favorecida pelo maior contato entre o analito e o agente redutor (condição de mistura), bem como evitando a dispersão da amostra pelo maior tempo de contato entre a amostra e reagente (gradiente de concentração).

Diante dos resultados apresentados, a injeção da amostra juntamente com o  $\text{NaBH}_4$  resultou em uma homogeneização mais rápida da zona de amostra e, consequentemente, num desenvolvimento da reação também mais rápido. Logo, o fato da mistura de soluções se iniciar

na fase de amostragem representou um aumento significativo do sinal analítico, indicando que a condição de mistura e o gradiente de concentração são dois fatores que influenciam no sinal analítico do sistema escolhido neste trabalho. Dessa maneira, a injeção simultânea foi escolhida para a continuidade dos experimentos.

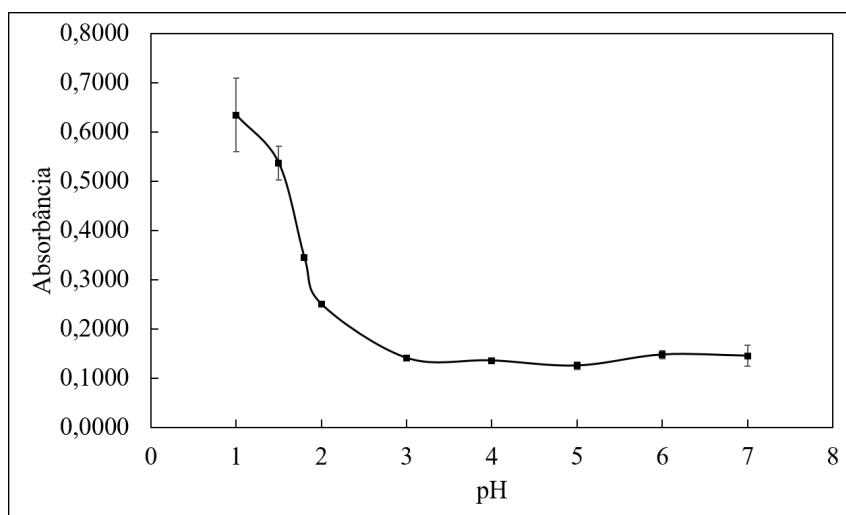
## 5.2 Influência do pH na formação do complexo

Os íons para serem separados/pré-concentrados através da técnica do ponto nuvem devem formar primeiramente um complexo com propriedades hidrofóbicas, para então serem extraídos para as micelas. Dessa forma, a eficiência da extração está diretamente relacionada à formação do complexo, que ocorre em uma determinada faixa de pH.

Um estudo da síntese e caracterização do complexo de ditiocarbamato de arsênio ( $\text{As}[\text{S}_2\text{CNPh}_2]_3$ ) foi proposto por Donahue *et al.* (2014). Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN), os espectros infravermelhos (IR), as microanálises e os pontos de fusão forneceram informações importantes quanto às estruturas do complexo de ditiocarbamato na presença e ausência de arsênio. A variação dos substituintes ligados ao nitrogênio não apresentaram alterações significativas nas distâncias e ângulos da ligação do complexo  $\text{As}[\text{S}_2\text{CNR}_2]_3$ , mas foi observado uma clara diferença na região de estiramento C-S quando os substituintes foram alterados. Portanto, os substituintes de ditiocarbamato afetam a ligação de enxofre quando ligado ao arsênio e portanto ficou evidente a afinidade do grupo tiol pelo As(III).

O estudo univariado realizado para avaliar a influência do pH na formação do complexo com APDC, apresentado na Figura 15, mostrou que maior sinal analítico foi obtido em pH igual a 1,0 e decresce rapidamente entre pH 1,0 e 2,0 e não apresentou diferença significativa entre os valores de 3,0 a 7,0.

Figura 15 – Estudo da influência do pH na formação do complexo, (n=3).

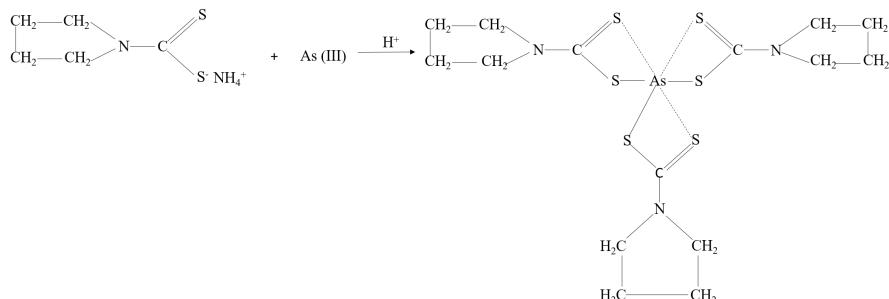


As(III) =  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ ; APDC = 0,50 % m/v; Triton X-114 = 0,21 % m/v NaCl = 1,05 % m/v; NaBH<sub>4</sub> = 0,50 % m/v; HCl = 1,0 mol.L<sup>-1</sup>; comprimento da bobina = 20 cm; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos. Fonte: (Autor).

Logo, o complexo é quantitativamente favorecido em valores de pH que se obtém o complexante na forma protonada (DIXIT *et al.*, 2016), ou seja, em valores de pH menores que 2,0 de acordo com os resultados obtidos.

A formação do composto de coordenação em meio ácido pode ser representada pela Figura 16.

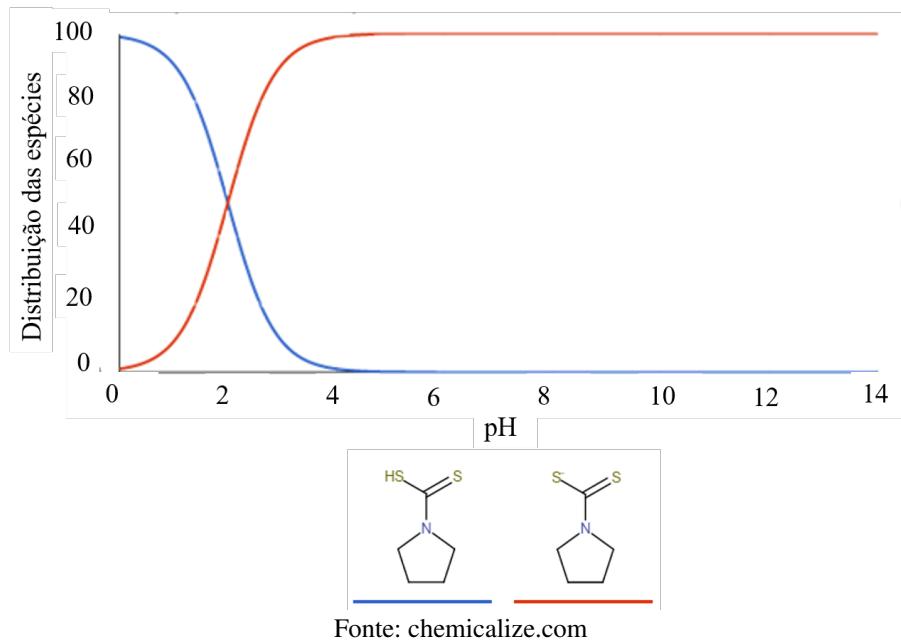
Figura 16 – Complexo formado entre As(III) e o complexante APDC.



Fonte: (Autor).

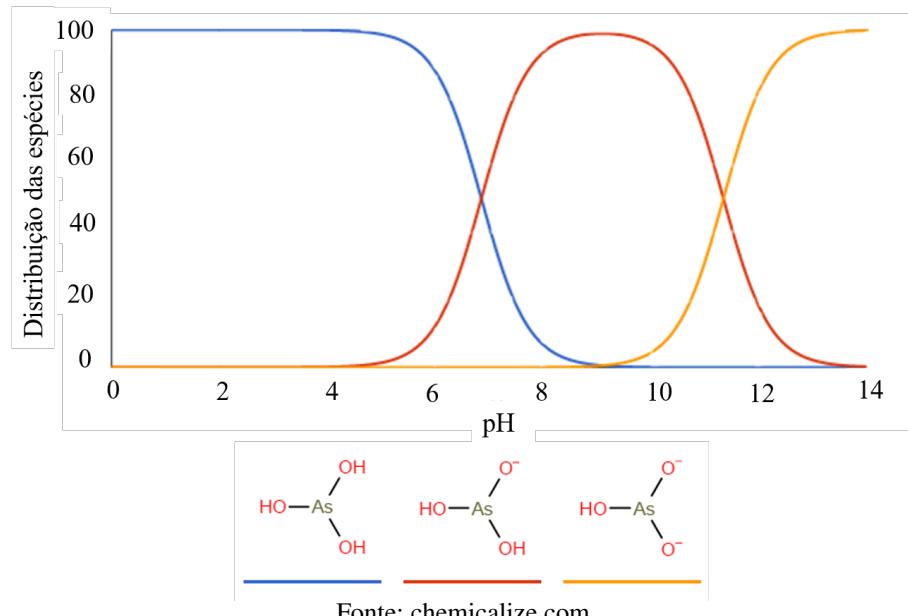
De acordo com os resultados obtidos, a extensão da formação do complexo entre As(III) e APDC é maior em meio ácido. Os resultados foram coerentes com a distribuição das espécies do complexante em função do pH, mostrado na Figura 17, que indica que em pH menor que 2,0 a espécie protonada prevalece sobre a espécie desprotonada.

Figura 17 – Distribuição das espécies de APDC em função do pH.



A comparação com as espécies de As(III) em função do pH, mostrada na Figura 18, indicaram coerência com os resultados obtidos, pois é a forma neutra do arsênio que apresenta maior afinidade com o grupo tiol (espécie protonada do complexante). Enquanto ocorre a desprotonação com o aumento do pH, a fração da espécie  $H_3AsO_3$  vai diminuindo gradativamente, por essa razão tem-se a diminuição contínua do sinal analítico.

Figura 18 – Distribuição das espécies de As(III) em função do pH.



Embora os maiores valores de absorbância foram obtidos em pH igual a 1,0, os mesmos não foram precisos. Como indicado pela distribuição das espécies de APDC, em pH 2,0 a espécie protonada está presente em 50%, sendo o pH máximo ideal para formação quantitativa do complexo. Por isso, de forma a garantir reproduzibilidade dos resultados, o valor de pH da fase aquosa foi mantido igual a 1,8, pois em pH menores não foi possível obter precisão adequada para os experimentos.

Em estudo para determinação de As(III) e As(V) na água do mar por espectrometria de absorção atômica após pré concentração por coprecipitação com o complexante ditiocarbamato de níquel-pirrolidina, Zhang *et al.* (2004) avaliaram a influência do pH final da solução de amostra, em que o As(III) foi quantitativamente coprecipitado com o complexante Ni-PDC quando o pH da solução de amostra foi ajustado no intervalo de 2,0 a 3,0, e que o As(V) dificilmente era coprecipitado, com uma recuperação inferior a 1% quando o pH da solução da amostra foi ajustada para 1,0.

Chen, Huo e Wang (2009) também realizaram o estudo do pH na formação do complexo entre As(III) e APDC e obtiveram a mesma faixa de pH para seletividade do As(III). O estudo foi baseado na análise de espécies de arsênio inorgânico em água natural por separação com nanofibras de carbono e determinação por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado.

### 5.3 Otimização do procedimento ponto nuvem

A etapa de pré-tratamento da amostra é reconhecidamente a mais demorada e trabalhosa do que a análise propriamente dita, sendo os procedimentos de preparação de amostra para determinação de arsênio muito críticos devido à alta volatilidade deste composto. Esta realidade

tem levado pesquisadores a buscarem alternativas mais simples e rápidas de tratamento da amostra. A técnica por ponto nuvem é bastante simples e não requer equipamentos sofisticados para obtenção de extrações eficientes e elevados fatores de pré-concentração.

É importante garantir que a concentração do agente complexante seja suficiente para formação quantitativa do complexo antes da adição do surfactante. Além disso, a quantidade de surfactante adicionada deve assegurar a formação dos agregados micelares em solução, ou seja, a concentração final do surfactante em solução deve exceder a CMC. Qualquer espécie que se associe ao agregado micelar em solução pode ser subsequentemente extraída em diferentes extensões, dependendo da força da interação da ligação micela-soluto. O Triton X-114 foi o surfactante escolhido pelo fato de possuir baixa temperatura de ponto nuvem, atóxico, baixo custo, uma alta densidade da fase rica em surfactante que facilita a separação de fases por centrifugação, bem como pela ausência de grupos eletroativos em sua molécula (PALEOLOGOS, 2017; MORTADA; HASSANIEN; EL-ASMY, 2014). Diante disso, o Triton X-114 vem sendo bastante empregado em estudos utilizando extração por ponto nuvem (LI *et al.*, 2015; ULUSOY *et al.*, 2011).

A temperatura em que ocorre a separação das fases é conhecido como ponto nuvem, cujo valor depende da estrutura e da concentração do surfactante. No entanto, as condições podem ser alteradas pela adição de eletrólito para que a solução micelar seja separada da fase aquosa. Santos-Ebinuma *et al.* (2013) estudaram o uso de NaCl, CaCl<sub>2</sub>·2 H<sub>2</sub>O e MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O sobre o ponto nuvem do Triton X-114 e observaram diminuição na temperatura de ponto nuvem, possibilitando a sua formação em temperatura ambiente. Isso ocorre devido o efeito “*salting-out*”.

Considerando que a análise de dados, juntamente com a experimentação são procedimentos essenciais que propiciam o uso de ferramentas quimiométricas, principalmente àquelas voltadas para otimização (VICENTINI *et al.*, 2011), foi realizado um planejamento fatorial 2<sup>4</sup> completo avaliando as melhores condições a serem empregadas na extração de As(III) por ponto nuvem. Os resultados desse estudo estão apresentados na Tabela 13.

Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente utilizando a análise de variância ANOVA, mostrados na Tabela 14, com nível de confiança igual a 95%. Os valores da soma dos quadrados (SQ), média dos quadrados (MQ) e graus de liberdade (gl) foram utilizados para determinar a significância dos efeitos principais e dos efeitos de interações para todas as variáveis pelo valor de F.

Os valores de F foram comparados com um valor tabelado pelo Teste F ao nível de 5% de probabilidade ( $F_{3,45,5\%} = 2,83$ ). Para um modelo que representa 94,7% dos dados têm-se que as variáveis que influenciaram significativamente na extração e pré-concentração de As (III) por ponto nuvem, ao nível de 95% de confiança, foram a concentração de APDC, de Triton X-114 e de antiespumante, pois o valor de F calculado para estas variáveis foi maior que o valor de F tabelado. As interações que apresentaram significância no mesmo intervalo de confiança foram

Tabela 13 – Resultado do planejamento fatorial 2<sup>4</sup> para estudo da extração e pré-concentração por ponto nuvem (n=3).

<b>Experimento</b>	<b>Variáveis escalonadas</b>				<b>Absorbância (média)</b>
	<b>APDC (% m/v)</b>	<b>Triton X-114 (% m/v)</b>	<b>NaCl (% m/v)</b>	<b>Antiespumante (% m/v)</b>	
1	0,10 (-1)	0,02 (-1)	0,52 (-1)	1,0 (-1)	0,0854 ( $\pm 0,0022$ )
2	0,50 (+1)	0,02 (-1)	0,52 (-1)	1,0 (-1)	0,0733 ( $\pm 0,01465$ )
3	0,10 (-1)	0,21 (+1)	0,52 (-1)	1,0 (-1)	0,1164 ( $\pm 0,0016$ )
4	0,50 (+1)	0,21 (+1)	0,52 (-1)	1,0 (-1)	0,2024 ( $\pm 0,0054$ )
5	0,10 (-1)	0,02 (-1)	1,05 (+1)	1,0 (-1)	0,0768 ( $\pm 0,0030$ )
6	0,50 (+1)	0,02 (-1)	1,05 (+1)	1,0 (-1)	0,0980 ( $\pm 0,0013$ )
7	0,10 (-1)	0,21 (+1)	1,05 (+1)	1,0 (-1)	0,1454 ( $\pm 0,0008$ )
8	0,50 (+1)	0,21 (+1)	1,05 (+1)	1,0 (-1)	0,1626 ( $\pm 0,0018$ )
9	0,10 (-1)	0,02 (-1)	0,52 (-1)	2,0 (+1)	0,0569 ( $\pm 0,0019$ )
10	0,50 (+1)	0,02 (-1)	0,52 (-1)	2,0 (+1)	0,1022 ( $\pm 0,0019$ )
11	0,10 (-1)	0,21 (+1)	0,52 (-1)	2,0 (+1)	0,1123 ( $\pm 0,0061$ )
12	0,50 (+1)	0,21 (+1)	0,52 (-1)	2,0 (+1)	0,2378 ( $\pm 0,0195$ )
13	0,02 (-1)	0,02 (-1)	1,05 (+1)	2,0 (+1)	0,0819 ( $\pm 0,0019$ )
14	0,50 (+1)	0,02 (-1)	1,05 (+1)	2,0 (+1)	0,0912 ( $\pm 0,0041$ )
15	0,10 (-1)	0,21 (+1)	1,05 (+1)	2,0 (+1)	0,1621 ( $\pm 0,0133$ )
16	0,50 (+1)	0,21 (+1)	1,05 (+1)	2,0 (+1)	0,2225 ( $\pm 0,0045$ )

As (III) = 5  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ; NaBH<sub>4</sub> = 0,50 % m/v; HCl = 1,0 mol·L<sup>-1</sup>; comprimento da bobina = 20 cm; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos.

Tabela 14 – ANOVA para o planejamento fatorial 2<sup>4</sup> no estudo da extração e pré-concentração por ponto nuvem.

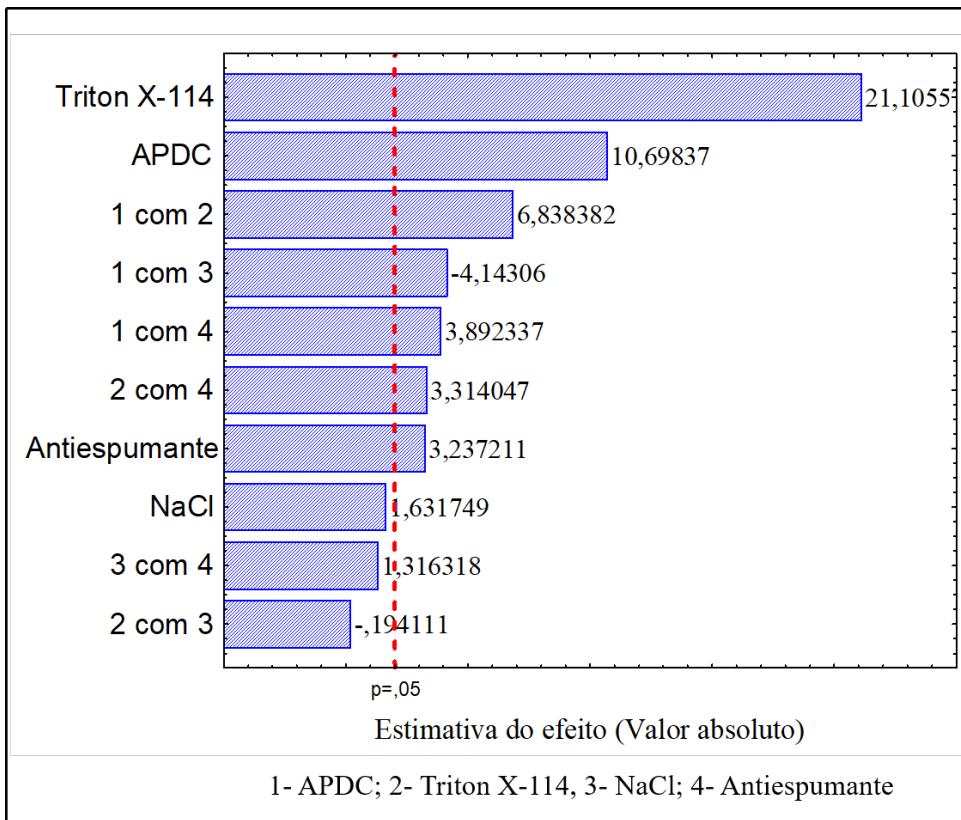
<b>Fator</b>	<b>SQ</b>	<b>gl</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) APDC	0,023329	1	0,023329	114,4551	0
(2) Triton X-114	0,090793	1	0,090793	445,4450	0
(3) NaCl	0,000543	1	0,000543	2,6626	0,111216
(4) Antiespumante	0,002136	1	0,002136	10,4795	0,002548
APDC x triton X-114	0,009532	1	0,009532	46,7635	0
APDC x NaCl	0,003499	1	0,003499	17,1650	0,000191
APDC x antiespumante	0,003088	1	0,003088	15,1503	0,000400
Triton X-114 x NaCl	0,000008	1	0,000008	0,0377	0,847151
Triton X-114 x antiespumamte	0,002239	1	0,002239	10,9829	0,002065
NaCl x antiespumante	0,000353	1	0,000353	1,7327	0,196164
Erro	0,007542	37	0,000204		
SQ total	0,143060	47			

entre as concentrações de: APDC e Triton X-114, APDC e NaCl, APDC e antiespumante e entre Triton X-114 e antiespumante, pois apresentaram valores de F calculado superiores ao valor de F tabelado. Esses resultados indicaram que o procedimento de otimização multivariada foi adequado para o estudo.

Isso também pode ser verificado pelo gráfico de Pareto, apresentado na Figura 19. Através do gráfico é possível avaliar o comportamento causado por cada uma das variáveis (efeito

principal) e o comportamento causado pela interação entre as variáveis (efeito de interação), ou seja, o que acontece com a resposta quando ocorre a mudança do nível (-) para o nível (+).

Figura 19 – Gráfico de Pareto gerado no planejamento fatorial 2<sup>4</sup>.



A concentração de Triton X-114 foi a variável que apresentou maior efeito sobre o sistema nas condições estudadas. O sinal positivo do efeito indica que melhores respostas são obtidas no nível de maior concentração de Triton X-114, uma vez que em baixas concentrações de surfactante não há formação de micelas suficientes para a extração do complexo formado e, consequentemente, baixa eficiência de pré-concentração. Portanto, a concentração de Triton X-114 igual a 0,21% m/v foi escolhida.

A concentração do complexante também apresentou efeito significativo, pois é ele que vai garantir a formação do complexo que será extraído pelas micelas do surfactante. Sendo assim, o gráfico indica que melhores resultados de absorbância foram obtidos utilizando a concentração de 0,50% m/v para esta variável.

O efeito de interação entre as concentrações de Triton X-114 e APDC (1 com 2), assim como entre Triton X-114 e antiespumante (1 com 4) são sinérgicos, ou seja, melhores resultados são obtidos mantendo as variáveis em concentrações maiores (nível +), pois o efeito principal de cada uma delas, que é significativo, é representado por um valor positivo.

Já o efeito de interação entre as variáveis Triton X-114 e NaCl (1 com 3) é antagônico, isto é, quando uma variável é mantida no nível alto (+) a outra deve ser mantida no nível baixo

(-) para obter melhor sinal analítico. Diante disso, como a variável NaCl não apresenta efeito significativo, sua concentração foi mantida no nível baixo, uma vez que o efeito principal do Triton X-114 foi mais significativo.

A adição de NaCl no meio promove a desidratação das cadeias hidrocarbonadas do surfactante como resultado de interações eletrostáticas mais fortes entre sais e moléculas de água em comparação com as ligações de hidrogênio entre as cabeças polares do surfactante e as moléculas de água. Ou seja, as moléculas de água destinam-se principalmente à solvatação de íons salinos e deixam espaço para as interações de van der Waals entre as moléculas de surfactantes nas micelas, que é responsável por uma diminuição na temperatura do ponto nuvem. Altas concentrações de sal podem aumentar a densidade da fase aquosa que possui a concentração de surfactante próxima à concentração micelar crítica podendo perturbar a separação de fases. Por outro lado, a ausência de sal diminui a eficiência da extração devido a um aumento na temperatura do ponto nuvem, levando à separação de fase incompleta à temperatura ambiente (MORTADA; HASSANIEN; EL-ASMY, 2014). Como o gráfico de Pareto indicou que o efeito principal do NaCl não foi significativo no intervalo avaliado, a concentração desta variável foi fixada em 0,52% m/v para o estudo da superfície de resposta, uma vez que nesta concentração há formação do ponto nuvem para extrair o complexo entre As(III) e APDC sem a necessidade de aquecimento.

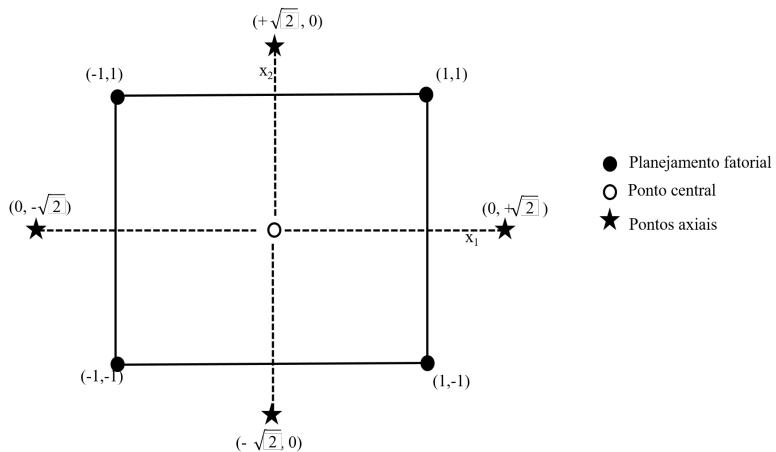
A interação entre as variáveis Triton X-114 e antiespumante (2 com 4) também apresentou efeito significativo e sinérgico, mantendo as duas variáveis no nível alto (+) devido ao comportamento individual de cada uma no sistema utilizado. A concentração do surfactante é diretamente proporcional a quantidade de fase rica formada e como a concentração de NaCl foi fixada e não avaliada na metodologia da superfície de resposta, um aumento na concentração de surfactante provoca um aumento na temperatura do ponto nuvem (SANTOS-EBINUMA *et al.*, 2013). Contudo, apesar do gráfico de Pareto indicar melhores resultados para concentrações maiores de surfactante, deve-se levar em consideração que quando a sua concentração é muito elevada o complexo se distribui em um volume maior e diminui o fator de pré-concentração. Além disso, foi utilizado neste trabalho a geração de hidretos e altas concentrações do surfactante é uma limitação para o sistema, devido a formação de espuma. Sendo assim, a concentração de Triton X-114 foi fixada como ótima em 0,21% (nível alto) e não foi avaliada no estudo da superfície de resposta, pois esta concentração foi suficiente para a formação do ponto nuvem.

Diante dos resultados obtidos no planejamento fatorial e da discussão exposta acima, a otimização foi realizada através da metodologia da superfície de respostas utilizando um CCD do tipo estrela (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001). O estudo foi realizado para as variáveis APDC e antiespumante, pois o complexante apresentou efeitos de interação significativo com três variáveis e o estudo da concentração do antiespumante é importante para garantir que não haja formação de espuma no separador gás-líquido.

O modelo quadrático para duas variáveis é representado por seis coeficientes e para

estimar eficientemente todos os coeficientes, ampliou-se o planejamento com os pontos estrela, os quais estão sobre uma circunferência de raio  $\sqrt{2}$ . O planejamento adotado pode ser representado na Figura 20 em termos das variáveis escalonadas (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

Figura 20 – Representação geométrica do planejamento composto central com ponto estrela.



Fonte: Adaptado de (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001)

Basicamente, estes experimentos são compostos de um ponto central, que será executado com réplicas e dará uma estimativa interna do erro puro e de pontos axiais, que irão determinar os termos quadráticos, sendo que os quatro pontos da estrela estão localizados nos centros de cada uma das quatro arestas da região experimental.

Os experimentos foram realizados em triplicata para estimar o erro experimental e também realizados de forma aleatória para evitar distorções estatísticas e da qualidade dos resultados obtidos, que estão apresentados na Tabela 15.

Com os valores de absorbância e os valores escalonados das variáveis obteve-se o modelo matemático que descreve o sistema, Equação 5.1, onde x representa a concentração do APDC e y a concentração do antiespumante.

$$ABS = -1,0532 + 2,7247 * x - 1,1477 * x^2 + 0,4372 * y - 0,0291 * y^2 - 0,4709 * x * y \quad (5.1)$$

A importância de cada variável está relacionada tanto com os sinais como com o valor de cada coeficiente, ou seja, coeficientes positivos indicam ganho de sinal analítico quando a variável passa do nível (-) para o nível (+), enquanto coeficientes negativos indicam que há ganho de sinal quando se trabalha em níveis baixos. E, quanto maior o valor do coeficiente maior é sua influência na resposta.

Os resultados obtidos pela ANOVA, apresentados na Tabela 16, indicam que 92% dos dados são representados pelo modelo. Comparando os valores de F calculado com o valor de F

Tabela 15 – CCD com ponto estrela (n=3).

<b>Experimento</b>	<b>Variáveis escalonadas</b>		<b>Absorbância (média)</b>
	<b>APDC (% m/v)</b>	<b>Antiespumante (% m/v)</b>	
1	0,25 (-1)	2,0 (-1)	0,0442 ( $\pm$ 0,0044)
2	0,75 (+1)	2,0 (-1)	0,3474 ( $\pm$ 0,0073)
3	0,25 (-1)	3,0 (+1)	0,2882 ( $\pm$ 0,0068)
4	0,75 (+1)	3,0 (+1)	0,3559 ( $\pm$ 0,0038)
5	0,50 (0)	1,7 ( $-\sqrt{2}$ )	0,3467 ( $\pm$ 0,0045)
6	0,50 (0)	3,2 ( $+\sqrt{2}$ )	0,3273 ( $\pm$ 0,0106)
7	0,14 ( $-\sqrt{2}$ )	2,5 (0)	0,0567 ( $\pm$ 0,0030)
8	0,85 ( $+\sqrt{2}$ )	2,5 (0)	0,3595 ( $\pm$ 0,0021)
9	0,50 (0)	2,5 (0)	0,3359 ( $\pm$ 0,0035)
10	0,50 (0)	2,5 (0)	0,3455 ( $\pm$ 0,0037)
11	0,50 (0)	2,5 (0)	0,3503 ( $\pm$ 0,0090)
12	0,50 (0)	2,5 (0)	0,3428 ( $\pm$ 0,0040)
13	0,50 (0)	2,5 (0)	0,3492 ( $\pm$ 0,0027)

As(III) = 5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; Triton X-114 = 0,21 % m/v; NaCl = 0,52 % m/v; NaBH<sub>4</sub> = 0,50 % m/v; HCl = 1,0 mol.L<sup>-1</sup>; comprimento da bobina = 20 cm; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos.

tabelado ao nível de 5% de probabilidade ( $F_{1,38,5\%} = 4,08$ ) pode-se descrever a influência dos termos lineares e quadráticos juntamente com a análise da Equação 5.1 e concluir que:

Tabela 16 – ANOVA para o CCD tipo estrela no estudo da extração e pré-concentração por ponto nuvem.

<b>Fator</b>	<b>SQ</b>	<b>gl</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) APDC (L)	0,239468	1	0,239468	239,9091	0
APDC (Q)	0,107400	1	0,107400	107,5974	0
(2) Antiespumante (L)	0,018979	1	0,018979	19,0138	0,000120
Antiespumante (Q)	0,001106	1	0,001106	1,1078	0,300213
APDC (L) x antiespumante (L)	0,041585	1	0,041585	41,6611	0
Erro	0,032939	33	0,000998		
SQ total	0,440463	38			

- O coeficiente linear positivo para a concentração de APDC indica que maiores concentrações favorecem a extração e pré-concentração de As(III) por ponto nuvem, enquanto que o coeficiente quadrático negativo, indica que menores concentrações favorecem o ganho de sinal. Portanto, a curvatura da superfície é influenciada pela concentração de APDC que gera maior contribuição para a maximização do sinal, observado pelo valor de F calculado;

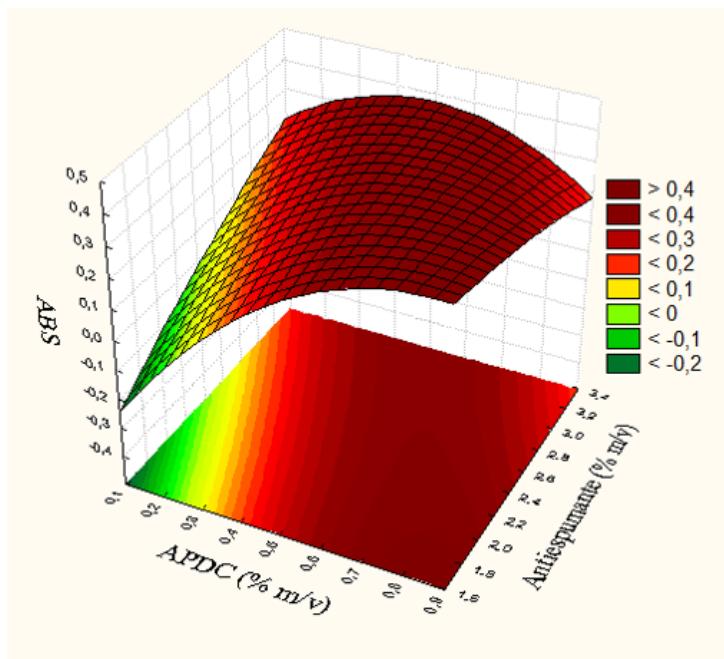
- A concentração de antiespumante não contribui da mesma forma que o APDC para a curvatura da superfície, pois o termo quadrático não é significativo, visto que o F calculado é menor que o F tabelado. Entretanto, o termo linear apresenta um efeito significativo indicando a primeiro momento que maiores concentrações de antiespumante são melhores, porém, o efeito de interação antagônico, coeficiente negativo, entre as variáveis foi mais significativo que o

efeito principal do antiespumante, F calculado, sugerindo que concentrações próximas ao nível (-) levam a um aumento de sinal.

A equação obtida no método de análises de superfície de respostas descreve o planejamento realizado. As etapas de deslocamento e modelamento são repetidas várias vezes, mapeando a superfície de respostas obtidas na direção da região de ponto ótimo desejado a partir do ajustamento de modelos lineares e quadráticos (EIRAS *et al.*, 2000).

Com um programa computacional e a equação do modelo matemático, obteve-se a superfície de respostas e suas linhas de contorno, conforme apresentados na Figura 21.

Figura 21 – Superfície de resposta da combinação das concentrações de APDC e antiespumante.



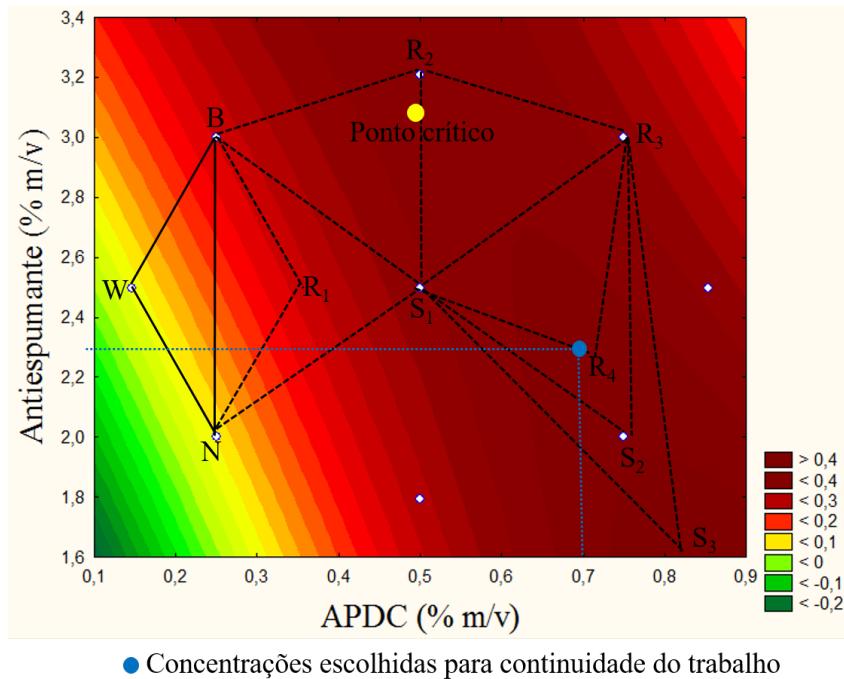
Fonte: (Autor), utilizando o programa Statistic.

A superfície não apresentou um ponto de máximo, pois o ponto crítico é representado por um ponto de sela. Tal ponto representa um máximo em uma direção e um mínimo em outra direção, ou representa um ponto de inflexão em uma ou várias direções, porém, não significa que a função possua valores mínimos ou máximos nele. Essa situação determina que, conhecidas as derivadas parciais de uma função, é possível definir os pontos críticos da mesma, mas não é possível saber se corresponde aos pontos de máximo, a menos que se faça testes experimentais nas suas proximidades.

Utilizando as linhas de contorno, foi possível simular o movimento de um simplex modificado, que se movimenta em direção ao ponto que apresenta melhores resultados, como mostrado na Figura 22.

Um simplex é uma figura geométrica em “n” dimensões, constituído de “n+1” pontos. Cada dimensão corresponde a uma variável a ser otimizada, logo, um simplex em duas dimensões é representado por um triângulo (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

Figura 22 – Simulação do comportamento das concentrações de antiespumante e APDC no simplex modificado.



Fonte: (Autor), utilizando o programa Statistic.

Os três primeiros pontos representam os vértices de um triângulo e são descritos pelas letras W, N e B, onde os valores de absorbância são nomeados de acordo com o pior (W), o próximo pior (N) ou melhor (B) sinal analítico. Para o movimento do simplex, o vértice que apresenta menor valor de absorbância (W) sofre uma reflexão (R) e se o sinal obtido for maior que W, um novo simplex é formado por NBR<sub>1</sub> e realiza-se uma expansão (S) no sentido da melhor resposta obtida. Se o sinal for maior, o novo simplex agora é formado pelos vértices NBS<sub>1</sub> e uma nova reflexão é realizada. Com esse raciocínio movimenta-se o simplex até obter o ponto de ótimo com o melhor sinal analítico.

O valor indicado como ponto crítico corresponde a concentrações de 0,53% e 3,1% m/v, respectivamente, para APDC e antiespumante. Pela análise das linhas de contorno, Figura 22, observa-se que há uma região (R<sub>4</sub>, S<sub>2</sub> e S<sub>3</sub>) em que o valor de absorbância parece ser maior, como indicado pelas cores correspondentes a cada valor de absorbância. A concentração do ligante deve ser suficiente para formar o complexo hidrofóbico, e como apresentado, em concentrações abaixo de 0,30% m/v não há formação quantitativa do complexo. É importante também ressaltar que o excesso de complexante pode afetar na seletividade da extração do complexo, uma vez que os ligantes que não estiveram ligados ao arsênio provavelmente poderão complexar outros íons ou ficarem livres e assim competir com o complexo As(III)-APDC durante a extração.

Diante disso, a Tabela 17 apresenta os novos experimentos realizados nos pontos R<sub>4</sub>, S<sub>2</sub> e S<sub>3</sub> e para os valores indicados pelo ponto crítico para avaliar a região que apresenta melhores resultados.

Com base nos resultados obtidos, verifica-se que a região que apresenta melhores resulta-

Tabela 17 – Experimentos realizados para definição do ponto ótimo.

<b>Experimento</b>	<b>Variáveis</b>		<b>Absorbância (média)</b>
	<b>APDC (% m/v)</b>	<b>Antiespumante (% m/v)</b>	
Ponto crítico	0,53	3,1	0,3014
R4	0,72	2,3	0,3497
S2	0,75	2,0	0,3483
S3	0,82	1,6	0,3502

dos corresponde aos pontos R<sub>4</sub>, S<sub>2</sub> e S<sub>3</sub> e afim de evitar um excesso de complexante, foi escolhido para a continuidade deste trabalho as concentrações de 0,70 e 2,3 % m/v, respectivamente, para APDC e antiespumante.

As condições otimizadas no procedimento de extração e pré-concentração por ponto nuvem são apresentadas na Tabela 18.

Tabela 18 – Valores otimizados para as variáveis no procedimento por ponto nuvem.

<b>Variáveis</b>	<b>Concentrações otimizadas (% m/v)</b>
APDC	0,70
Triton X-114	0,21
NaCl	0,52
Antiespumante	2,3

## 5.4 Otimização do sistema de geração de hidreto por análise de injeção em fluxo

Com as condições otimizadas no ponto nuvem fixadas, as variáveis relacionadas ao sistema de geração de hidreto em fluxo foram estudadas.

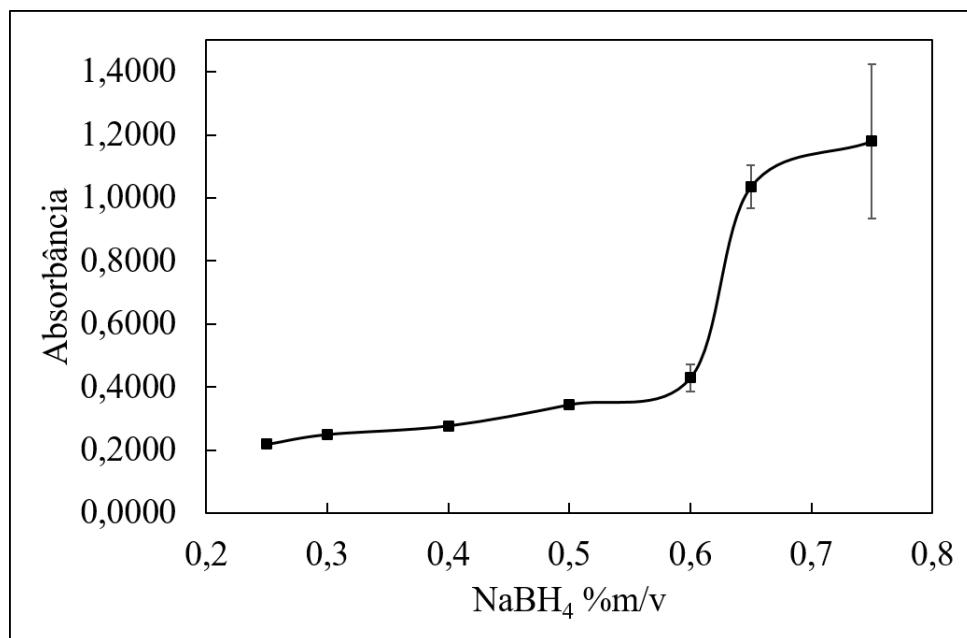
### ➢ Efeito da concentração de NaBH<sub>4</sub>

Em 1972 foi proposto a utilização de tetrahidroborato de sódio (NaBH<sub>4</sub>) que precisam ser estabilizadas em meio alcalino, para geração de hidretos de arsênio e antimônio (BRAMAN; JUSTEN; FOREBACK, 1972).

Geralmente, a concentração de NaBH<sub>4</sub> depende da espécie analítica a ser determinada, do seu estado de oxidação, do pH da solução e do sistema proposto para geração de hidretos (D'ULIVO, 2004). Os trabalhos na literatura recomendam o uso da solução de borohidreto na faixa de 0,2 - 5% (m/v), em solução aquosa estabilizada por 0,1 - 2,0% (m/v) de KOH ou NaOH (PEREIRA *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2011).

Em busca das melhores respostas para a geração seletiva de hidretos de arsênio, o efeito de diferentes concentrações de borohidreto de sódio foi avaliado na sensibilidade do método analítico. Este estudo foi realizado porque o arsenito forma  $\text{AsH}_3$  em reação com o  $\text{NaBH}_4$ , logo a concentração do redutor na presença de HCl influencia diretamente na proporção do hidreto formado. Os resultados obtidos em função da concentração de  $\text{NaBH}_4$  estão apresentados na Figura 23.

Figura 23 – Estudo da concentração de  $\text{NaBH}_4$  na determinação de As(III).



As(III) =  $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ ; APDC = 0,70% m/v; Triton X-114 = 0,21 % m/v; NaCl = 0,52 % m/v; Antiespumante = 2,3% m/v; HCl = 1,0 mol.L $^{-1}$ ; comprimento da bobina de reação = 20 cm; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos.  
Fonte: (Autor).

Foi observado um aumento de sinal analítico até a concentração de 0,65%, sendo que para essa concentração bem como para concentrações maiores, houve um desvio considerável entre os resultados obtidos, como pode ser visto pela barra de erros. Isso ocorre, porque em maiores concentrações de  $\text{NaBH}_4$  há formação de grande quantidade de  $\text{H}_2$  e esse excesso gerado forneceu resultados com pouca precisão.

Diante disso, para garantir precisão nas leituras, a concentração de  $\text{NaBH}_4$  igual 0,50% m/v foi escolhida para as próximas etapas, pois esta concentração apresentou bom sinal analítico e precisão adequada para reduzir o arsênio ao hidreto correspondente.

#### ➤ Efeito da concentração de HCl

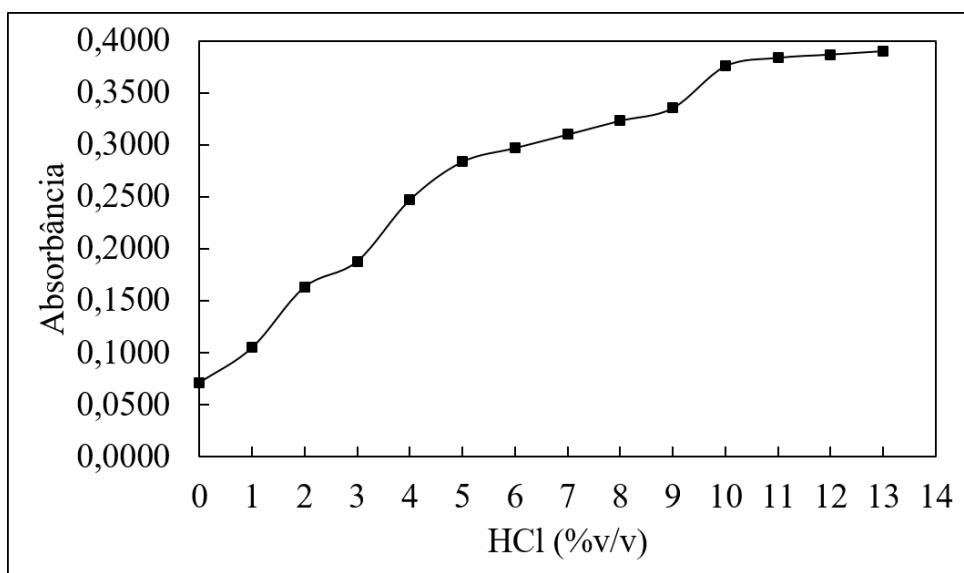
No sistema  $\text{NaBH}_4$ /ácido, o HCl é o mais utilizado na hidrólise ácida do  $\text{NaBH}_4$  (D'ULIVO *et al.*, 2011). A partir dessa reação é que se obtém o hidrogênio que reduz o analito à

sua forma de hidreto, como indicado pela Equação 5.2.



O estudo da concentração do ácido clorídrico cujos resultados estão apresentados na Figura 24, indica um aumento de absorbância até 11% v/v, permanecendo quase constante para concentrações superiores. Isso indica que o hidreto necessita de um meio ácido para ser formado, porém, não é necessário acidez maiores do que aquelas estudadas. Visto que o borohidreto é o reagente limitante, ou seja, não justifica altas concentrações de ácido se não há  $NaBH_4$  para ser reduzido, a concentração de 11% v/v para a concentração de  $HCl$ , que corresponde a  $1,3\text{ mol.L}^{-1}$ , foi escolhida como melhor condição para esta variável afim de garantir a redução de todo borohidreto.

Figura 24 – Estudo da concentração de  $HCl$  na determinação de As(III).



As(III) =  $5\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ ; APDC = 0,70% m/v; Triton X-114 = 0,21% m/v;  $NaCl$  = 0,52% m/v; Antiespumante = 2,3% m/v;  $NaBH_4$  = 0,50% m/v; comprimento da bobina de reação = 20 cm; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos. Fonte: (Autor).

### ➤ Efeito da bobina de reação

A análise em fluxo tem como princípio a injeção de uma alíquota da amostra em um fluido carregador. Enquanto é transportada para o detector, a amostra dispersa no fluido carregador, gerando um gradiente de concentração. O grau de dispersão da amostra depende, principalmente, do comprimento do percurso analítico, portanto controlando esse parâmetro, ajusta-se a magnitude do sinal gerado (RUZICKA, 2016).

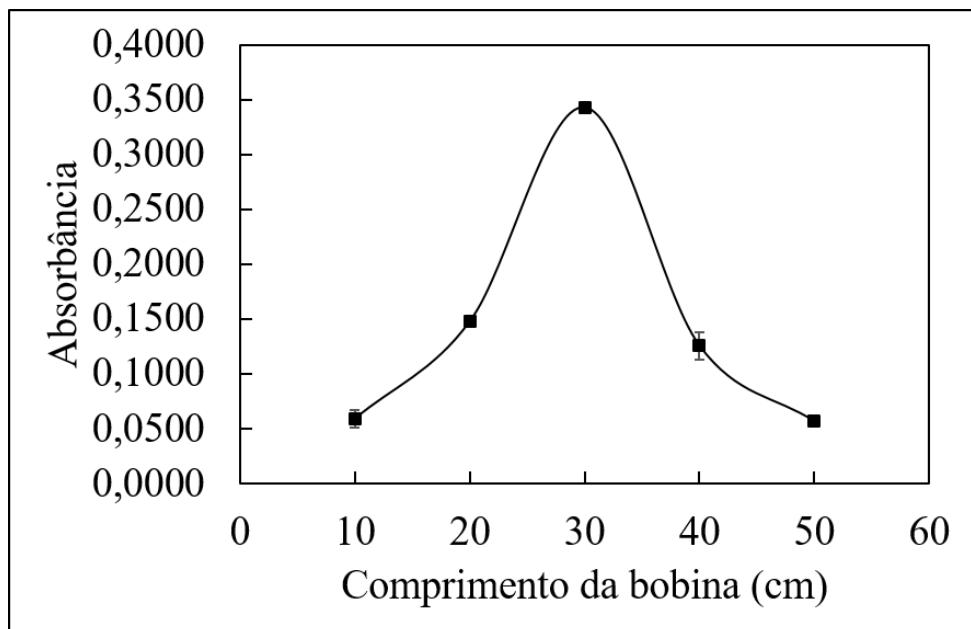
A dispersão da zona de amostra aumenta com a raiz quadrada da distância percorrida através da linha de fluxo, de acordo com a Equação 5.3 (MCKELVIE, 2008), em que D é o valor

da dispersão e  $L$  é comprimento da bobina de reação. Logo, se é preciso diminuir a dispersão e aumentar o tempo de residência, as dimensões do tubo devem ser minimizadas.

$$D = \sqrt{L} \quad (5.3)$$

Considerando que o hidreto de arsênio é formado quando a amostra acidificada entra em contato com a solução de borohidreto de sódio, uma das variáveis estudadas foi o comprimento da bobina que está associada ao tempo necessário para a reação ocorrer. Os resultados do estudo para esta variável estão apresentados na Figura 25.

Figura 25 – Efeito do comprimento da bobina de reação na determinação de As(III).



As(III) = 5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; APDC = 0,70% m/v; Triton X-114 = 0,21% m/v; NaCl = 0,52% m/v; Antiespumante = 2,3% m/v; NaBH<sub>4</sub> = 0,50 % m/v; HCl = 1,3 mol.L<sup>-1</sup>; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos. Fonte: (Autor).

Os resultados utilizando a bobina de 10 cm mostraram que o intervalo de tempo disponível para a reação química foi insuficiente. Embora bobinas com comprimentos maiores permitam tempos de reação mais longos, os resultados indicaram que para comprimentos maiores que 30 cm ocorre diminuição do sinal analítico devido à maior dispersão do produto formado.

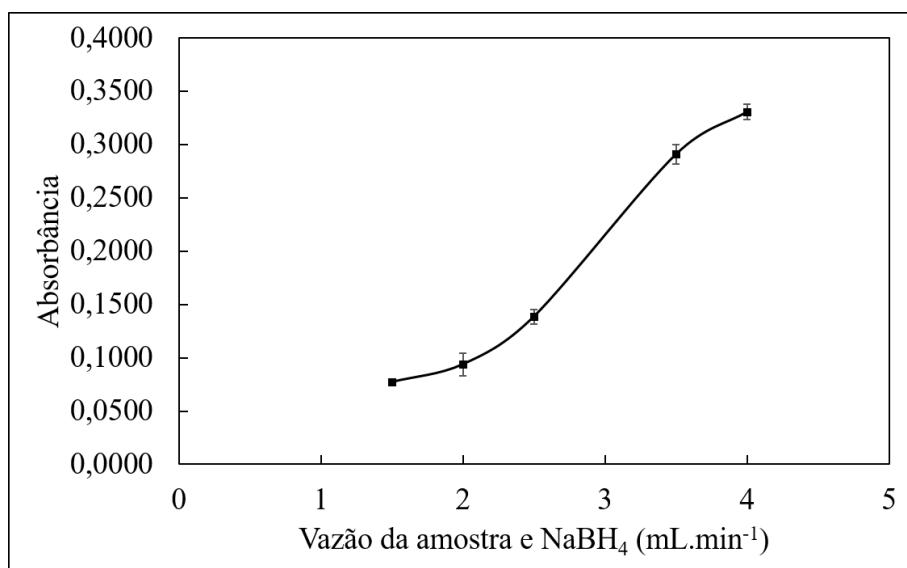
Em estudo para determinação de arsênio por espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto em um sistema de injeção em fluxo, Moretto (2001) avaliou a influência da bobina de reação em diferentes comprimentos (10, 20, 30, 40, 60 e 80 cm), obtendo o melhor sinal analítico em termos de sensibilidade e reproduzibilidade com a bobina de 30 cm de comprimento.

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho e as fundamentações teóricas relacionadas à dispersão da amostra e em relação à cinética de formação do hidreto, a bobina de 30 cm foi utilizada para a continuidade dos experimentos.

### ➤ Efeito da vazão da amostra e NaBH<sub>4</sub>

Se o fluxo do analito é maior que do redutor, este passa a ser um limitante da reação, pois a formação da arsina ocorre a partir do hidrogênio proveniente do borohidreto. Por outro lado, se a vazão do redutor for elevada, há excesso de hidrogênio formado e desestabiliza o sistema. Sendo assim, a vazão das duas variáveis foram avaliadas simultaneamente e os resultados estão apresentados na Figura 26.

Figura 26 – Estudo da vazão da amostra e redutor.



As(III) = 5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; APDC = 0,70% m/v; Triton X-114 = 0,21% m/v; NaCl = 0,52% m/v; Antiespumante = 2,3% m/v; NaBH<sub>4</sub> = 0,50 % m/v; HCl = 1,3 mol.L<sup>-1</sup>; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos. Fonte: (Autor).

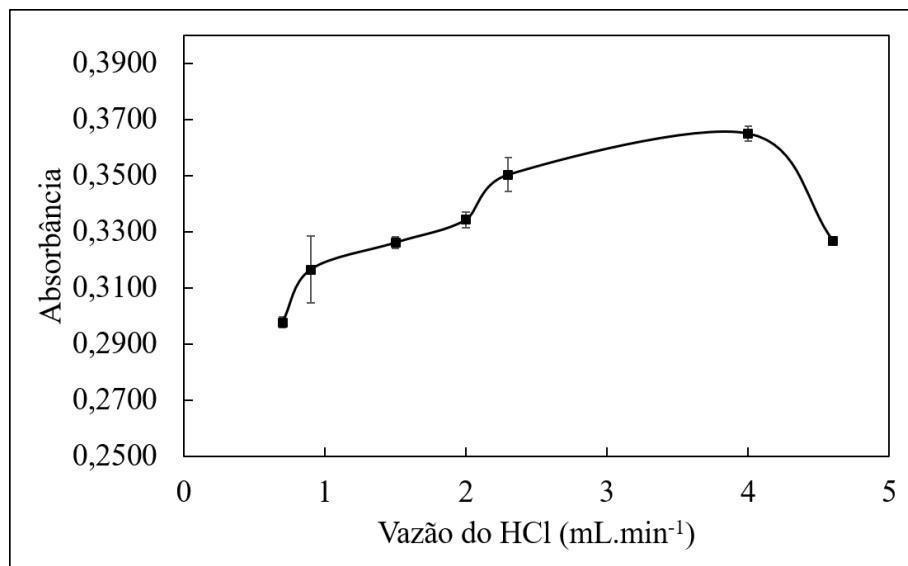
O aumento da vazão de bombeamento foi controlada aumentando a rotação da bomba peristáltica, e tem como objetivo manter a razão entre as soluções, pois todos os fluxos foram aumentados na mesma proporção. Desse modo, não haveria alteração na proporção dos reagentes e da amostra.

O sinal aumentou até a vazão de 4 mL.min<sup>-1</sup> e para vazões superiores houve comprometimento da eficiência no processo de separação gás-líquido devido ao grande fluxo no separador gás-líquido. Conclui-se então que a vazão tem efeito marcante na magnitude do sinal, ou seja, a extensão da reação e o tempo de reação são controlados pela vazão da amostra e borohidreto de sódio, pois com o aumento da concentração há maior quantidade de arsina formada e isso gera um aumento de sinal analítico. Sendo assim, a vazão de 4 mL.min<sup>-1</sup> para as variáveis estudadas, foi selecionada para a continuidade dos experimentos.

### ➤ Efeito da vazão do ácido

O estudo da vazão do HCl, mostrado na Figura 27, foi feito utilizando diferentes tubos de Tygon®. Os diferentes diâmetros internos dos tubos, ocasionam diferentes vazões para injeção do ácido.

Figura 27 – Estudo da vazão do ácido.



As(III) = 5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; APDC = 0,70% m/v; Triton X-114 = 0,21% m/v; NaCl = 0,52% m/v; Antiespumante = 2,3% m/v; NaBH<sub>4</sub> = 0,50 % m/v; HCl = 1,3 mol.L<sup>-1</sup>; vazão da amostra e NaBH<sub>4</sub> = 4 mL.min<sup>-1</sup>; tempo de abertura das válvulas = 5 segundos. Fonte: (Autor).

O tempo de residência da zona de amostra é uma função inversa da vazão de bombeamento da solução do ácido, portanto, uma elevada vazão do HCl não favorece a formação quantitativa do hidreto pelo tempo de contato entre a amostra e o reagente redutor antes de alcançarem o separador. Sendo assim a vazão de 4 mL.min<sup>-1</sup> foi escolhida a fim de garantir um melhor sinal analítico para o sistema em estudo, pois em vazões maiores, ocorre diminuição no sinal analítico devido ao curto tempo para que o redutor e amostra reagissem em meio ácido antes de alcançar o separador gás-líquido e pela menor quantidade de H<sub>2</sub> gerado.

#### ➤ Efeito do volume da amostra e reagente

O aumento do volume de amostra aumenta a sensibilidade e o limite de detecção se a zona de amostra recebe quantidade de matéria e de reagentes apropriadas. Portanto, o volume das alíquotas da amostra e dos reagentes podem ter um efeito marcante sobre a homogeneização da mistura e afetar as condições de reação e a estabilidade do sinal analítico.

O tempo de acionamento das válvulas e a vazão de bombeamento determinam o volume de cada alíquota das soluções da amostra e dos reagentes utilizados em cada análise. Alterar o volume de amostra é um modo eficiente para manipular a dispersão e, por consequência, a sensibilidade e o limite de detecção.

O experimento foi encaminhado conforme Tabela 19, que apresenta os resultados obtidos para todas as combinações possíveis entre as variáveis.

Com os valores de absorbância e os valores escalonados das variáveis, o modelo matemático que descreve o sistema é representado pela Equação 5.4, onde  $x$  representa o tempo de

Tabela 19 – CCD com ponto estrela para estudo do volume da amostra e reagente (n=3).

<b>Experimento</b>	<b>Variáveis escalonadas</b>		<b>Absorbância (média)</b>
	<b>tempo de abertura (s) (V<sub>1</sub> e V<sub>2</sub>)</b>	<b>tempo de abertura (s) (V<sub>3</sub>)</b>	
1	4,0 (-1)	4,0 (-1)	0,2391 ( $\pm$ 0,0020)
2	6,0 (+1)	4,0 (-1)	0,0972 ( $\pm$ 0,0037)
3	4,0 (-1)	6,0 (+1)	0,2986 ( $\pm$ 0,0169)
4	6,0 (+1)	6,0 (+1)	0,3225 ( $\pm$ 0,0048)
5	5,0 (0)	3,6 ( $-\sqrt{2}$ )	0,0884 ( $\pm$ 0,0048)
6	5,0 (0)	6,5 ( $+\sqrt{2}$ )	0,3472 ( $\pm$ 0,0049)
7	3,6 ( $-\sqrt{2}$ )	5,0 (0)	0,2050 ( $\pm$ 0,0055)
8	6,5 ( $+\sqrt{2}$ )	5,0 (0)	0,2720 ( $\pm$ 0,0066)
9	5,0 (0)	5,0 (0)	0,3953 ( $\pm$ 0,0046)
10	5,0 (0)	5,0 (0)	0,3947 ( $\pm$ 0,0054)
11	5,0 (0)	5,0 (0)	0,3853 ( $\pm$ 0,0120)
12	5,0 (0)	5,0 (0)	0,3947 ( $\pm$ 0,0054)
13	5,0 (0)	5,0 (0)	0,3951 ( $\pm$ 0,0022)

As(III) = 5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; APDC = 0,70% m/v; Triton X-114 = 0,21% m/v; NaCl = 0,52% m/v; Antiespumante = 2,3% m/v; NaBH<sub>4</sub> = 0,50% m/v; HCl = 1,3 mol.L<sup>-1</sup>; vazão da amostra e reagentes = 4 mL.min<sup>-1</sup>.

abertura das válvulas 1 e 2 e y o tempo de abertura da válvula 3.

$$ABS = -2,8973 + 0,5245^*x - 0,0734^*x^2 + 0,7123^*y - 0,0838^*y^2 + 0,0414^*x^*y \quad (5.4)$$

Com o valor de F tabelado igual a  $F_{1,38,5\%} = 4,08$ , com os valores obtidos para o F calculado, Tabela 20, e os coeficientes da Equação 5.4 é possível interpretar o comportamento do volume da amostra e reagente.

Tabela 20 – ANOVA para o CCD tipo estrela no estudo do volume de injeção da amostra e reagentes.

<b>Fator</b>	<b>SQ</b>	<b>gl</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) V <sub>1</sub> e V <sub>2</sub> (L)	0,000204	1	0,000204	0,3036	0,585343
V <sub>1</sub> e V <sub>2</sub> (Q)	0,112658	1	0,112658	167,7422	0
(2) V <sub>3</sub> (L)	0,158910	1	0,158910	236,6091	0
V <sub>3</sub> (Q)	0,146634	1	0,146634	218,3303	0
V <sub>1</sub> e V <sub>2</sub> (L) X V <sub>3</sub> (L)	0,020617	1	0,020617	30,6980	0,000004
Erro	0,022163	33	0,000672		
SQ total	0,431565	38			

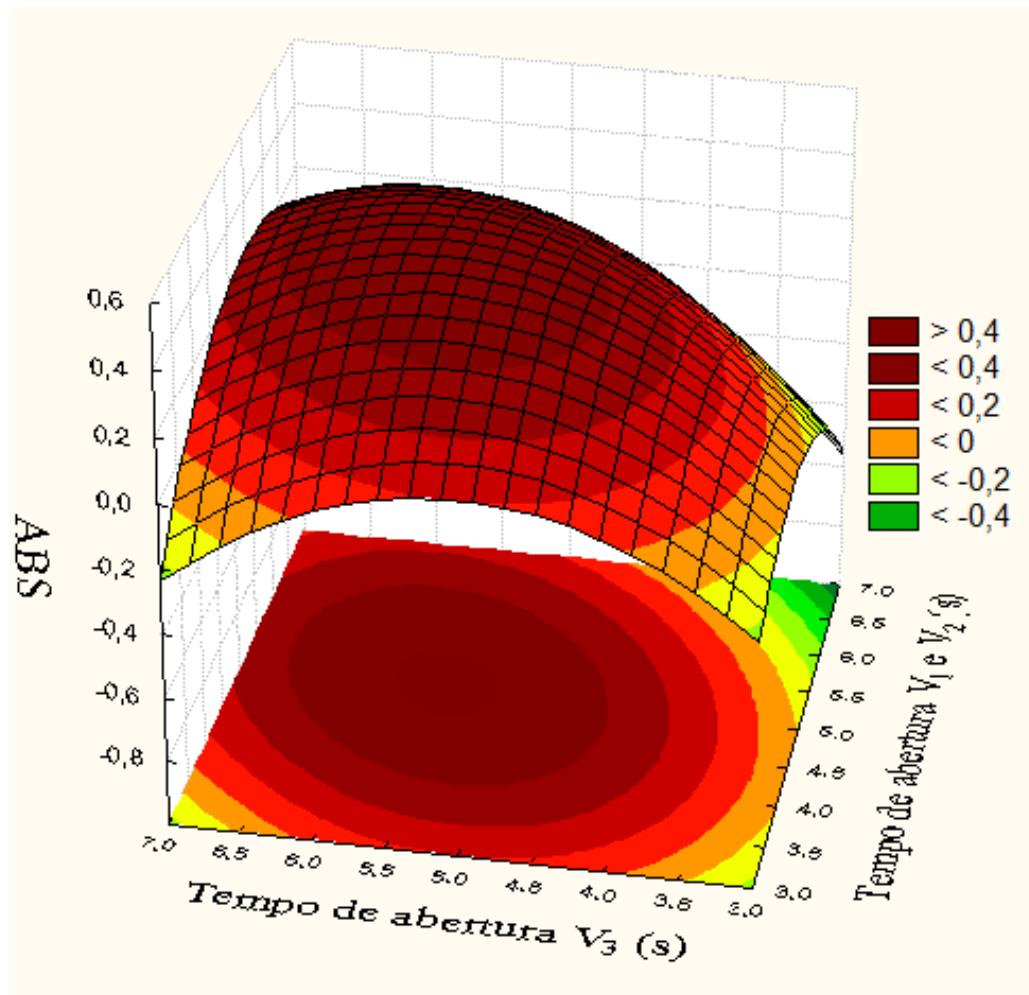
O coeficiente linear para a abertura das válvulas 1 e 2 não foi significativo, pois o valor de F calculado (0,3036) é menor que o F tabelado (4,08). Já o coeficiente quadrático para V<sub>1</sub> e V<sub>2</sub> foi negativo e comparando os valores de F verifica-se que esse termo é significativo, logo, há ganho de sinal analítico quando as válvulas ficaram abertas em tempos menores.

O coeficiente linear para a válvula 3 foi positivo e esse termo é significativo, ou seja, espera-se melhores respostas em tempos maiores de abertura da válvula. O coeficiente quadrático para esta variável foi negativo, porém, apresenta menor significância em relação ao termo linear, portanto, a tendência indicada pelo termo linear foi mantida.

O efeito de interação entre as variáveis foi sinérgico (coeficiente positivo) e apresentou menor significância que os termos isolados. Sendo assim, há indicação que melhores resultados são obtidos com um tempo de abertura menor para  $V_1$  e  $V_2$  e tempo de abertura maior para  $V_3$ .

O modelo gerado que representa 95% dos dados apresentou um ponto de máximo. A superfície de resposta e as linhas de contorno para o modelo estão representadas na Figura 28.

Figura 28 – Superfície de resposta do tempo de abertura das válvulas.



Fonte: (Autor), utilizando o programa Statistic

O modelo matemático previsto forneceu os valores críticos através da primeira derivada da função matemática que descreve a superfície de resposta. Os valores críticos indicam que as melhores condições de trabalho foram 5 segundos para o tempo de abertura das válvulas 1 e 2 e 5,5 segundos para a válvula 3, que correspondem a 0,33 e 0,36 mL, respectivamente, para o volume injetado de amostra-redutor e volume injetado do ácido.

Com o sistema otimizado, evita-se a contaminação cruzada entre as leituras das amostras, destacando-se também a robustez da técnica pelo fato de que o volume a ser injetado pode ser facilmente variado por alteração do tempo de abertura das válvulas, sem necessidade de desligar o equipamento ou trocar os tubos de Tygon®.

As condições otimizadas na geração de hidreto por análise em fluxo são apresentadas na Tabela 21.

Tabela 21 – Valores otimizados para as variáveis no sistema de geração de hidreto por análise em fluxo.

Variáveis	Condições otimizadas
Comprimento da bobina (cm)	30
Concentração de NaBH <sub>4</sub> (% m/v)	0,50
Concentração de HCl (% v/v)	11
Vazão da amostra e NaBH <sub>4</sub> (mL.min <sup>-1</sup> )	4,0
Vazão do HCl (mL.min <sup>-1</sup> )	4,0
Volume de amostra e NaBH <sub>4</sub> (mL)	0,33
Volume de HCl (mL)	0,36

Após a otimização de todas as variáveis, envolvidas tanto no procedimento do ponto nuvem quanto da geração de hidreto por injeção em fluxo, verifica-se um ganho de sinal analítico aproximadamente 89 vezes maior em comparação às leituras sem pré-concentração e otimização das variáveis.

## 5.5 Estudo da seletividade do método

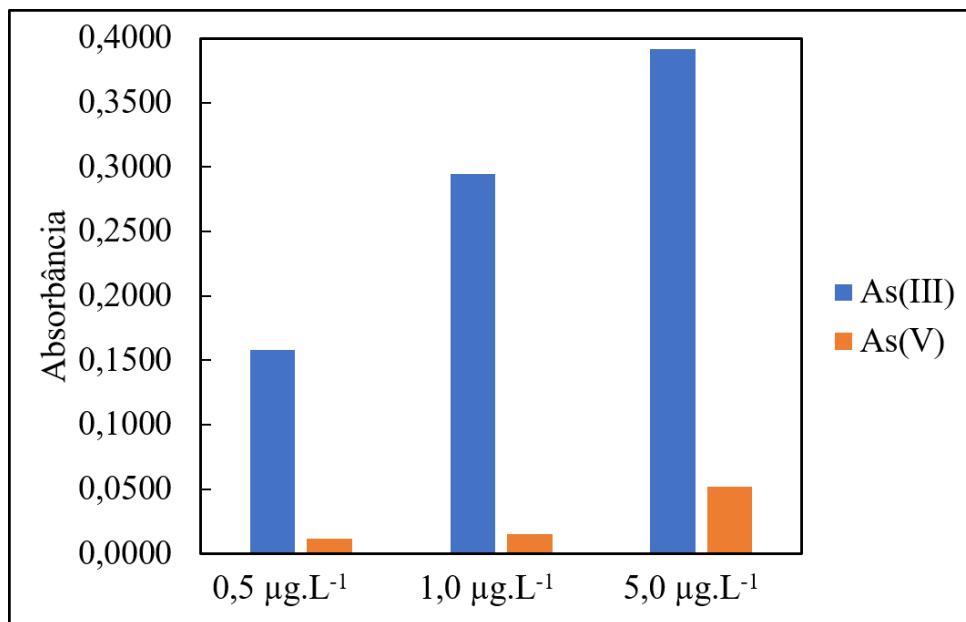
Este trabalho tem como finalidade a determinação de arsênio total a partir da extração seletiva de As(III). Para que o procedimento seja aplicado com a finalidade de especiação, torna-se necessário verificar a influência da espécie pentavalente em relação ao procedimento proposto.

Esse estudo foi realizado tanto para As(III) quanto para As(V), submetidas separadamente ao procedimento de extração por ponto nuvem para avaliar se é possível extrair e determinar apenas a espécie trivalente sem influência significativa da espécie pentavalente.

Conforme mostra a Figura 29, o complexo entre As(III) e APDC é formado e eficientemente extraído por meio da extração por ponto nuvem, enquanto que a espécie de As(V) só pode ser extraída e determinada quantitativamente após uma etapa prévia de redução/conversão para a forma trivalente. Sob as condições otimizadas, observa-se que As(V) é extraído com um valor de absorbância correspondente à 9,6% do sinal obtido com As(III) na concentração de 5 µg.L<sup>-1</sup>.

Os resultados obtidos confirmam a seletividade do método proposto com base na reação específica do As(III) com APDC, como também foi utilizado em outras publicações para extração seletiva da espécie trivalente (ARAIN *et al.*, 2016; WU; SUN, 2016).

Figura 29 – Verificação da seletividade do método proposto.



APDC = 0,70% m/v; Triton X-114 = 0,21% m/v; NaCl = 0,52% m/v; Antiespumante = 2,3% m/v; NaBH<sub>4</sub> = 0,50% m/v; HCl = 1,3 mol.L<sup>-1</sup>; vazão da amostra e reagentes = 4 mL.min<sup>-1</sup>; volume de amostra e NaBH<sub>4</sub> = 0,33 mL; volume de HCl = 0,36 mL. Fonte: (Autor).

## 5.6 Teste de interferentes

Para avaliar o comportamento dos interferentes nas condições otimizadas, foi considerado uma possível aplicação do procedimento em sedimentos de região de mineração. Portanto, para se definir os interferentes foi considerado as espécies presentes na matriz (ANA:Agência Nacional de Águas, 2015) e que possivelmente também formam complexo com o APDC, que é o agente complexante utilizado neste trabalho.

Os resultados apresentados na Tabela 22 correspondem ao valor do Fator de Interferência, que foi obtido pelo quociente entre o sinal analítico para a solução de As(III) contendo o interferente a ser avaliado e o sinal analítico para a solução contendo apenas o As(III).

Tabela 22 – Estudo de íons interferentes na determinação de As (III)

Interferente	Proporção As(III):Interferente				
	1:5	1:10	1:100	1:500	1:1000
Fe (III)	1,10	0,94	0,79	0,71	0,62
Hg (II)	0,89	0,88	0,79	0,77	0,70
Ni (II)	1,01	1,00	0,91	0,78	0,73
Co (II)	0,99	0,99	0,94	0,74	0,67
Cu (II)	0,97	0,93	0,61	0,57	0,40
Zn (II)	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
Pb (II)	0,97	0,97	0,96	0,95	0,95

As(III) = 1  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; APDC = 0,70% m/v; Triton X-114 = 0,21% m/v; NaCl = 0,52% m/v; Antiespumante = 2,3% m/v; NaBH<sub>4</sub> = 0,50% m/v; HCl = 1,3 mol.L<sup>-1</sup>; vazão da amostra e reagentes = 4 mL.min<sup>-1</sup>; volume de amostra e NaBH<sub>4</sub> = 0,33 mL; volume de HCl = 0,36 mL. Fonte: (Autor).

Um Fator de Interferência igual a 1,00 indica que o interferente estudados não perturba o sistema. Um Fator de Interferência maior que 1,00 indica que o interferente provoca um aumento no sinal analítico esperado, enquanto que um valor menor que 1,00 significa que o interferente provoca uma interferência negativa no sinal analítico esperado. Diante disso, considerando a concentração dos íons interferentes e que há efeito de interferência para alterações nos valores de absorbância acima de 10%, os íons Zn(II) e Pb(II) não interferem na determinação de As(III), enquanto que Fe(III) e Cu(II) interferem a partir da proporção de 1:100. Ni(II) e Co(II) provocam um redução no sinal a partir da proporção de 1:500. A interferência mais crítica foi observada para Hg(II) que provocou redução do sinal analítico em todas as razões estudadas.

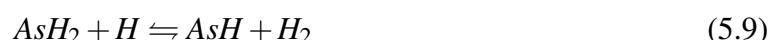
Considerando a possível concentração desses íons na amostra de sedimento (ANA:Agência Nacional de Águas, 2015), considera-se o efeito de interferência apenas para os íons Fe(III) e Hg(II).

Essas interferências podem ser consideradas na fase aquosa ou na fase gasosa.

Welz *et al.* (1990) estudaram as reações de atomização da arsina em um tubo de quartzo aquecido usando absorção atômica e espectrometria de massa. Foi observado que a atomização dos hidretos gasosos ocorre devido aos átomos de hidrogênio livres, pois arsina não produz sinal de atomização quando é introduzida em uma célula de quartzo aquecida contendo apenas o gás inerte, sendo necessário um suprimento de oxigênio, conforme é apresentado pelas Equações 5.5, 5.6 e 5.7,



Foi então proposto que a atomização da arsina ocorre em três passos por colisão com os radicais H, de acordo co as Equações 5.8, 5.9 e 5.10, (WELZ *et al.*, 1990).



As interferências no estado gasoso pode ser pelo fato do interferente reduzir a quantidade de radicais H no interior do atomizador, diminuindo a eficiência de atomização da arsina ou através da reação analito-interferente, que pode resultar na formação de moléculas diatômicas estáveis (TAKASE *et al.*, 2002).

A interferência na fase líquida pode ser causada porque ocorre uma competição para a redução das diferentes espécies químicas, resultando numa baixa formação do hidreto.

Para controle destas interferências já na etapa do ponto nuvem, foi avaliado a presença do complexante EDTA como mascarante, com a finalidade de impedir que estes íons sejam extraídos no ponto nuvem.

Para isso, as proporções que apresentaram interferência de acordo com a concentração das espécies na matriz(Fe(III) 1:1000 e Hg(II) 1:100) foram avaliadas na presença de EDTA 0,02, 0,05 e 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, com os resultados apresentados na Tabela 23. A concentração de 0,1 mol.L<sup>-1</sup> de EDTA mascarou os íons interferentes a partir da formação de complexos hidrossolúveis, impedindo que estes sejam extraídos pelas micelas no ponto nuvem e provoquem alguma interferência na atomização da arsina.

Tabela 23 – Avaliação de EDTA como mascarante.

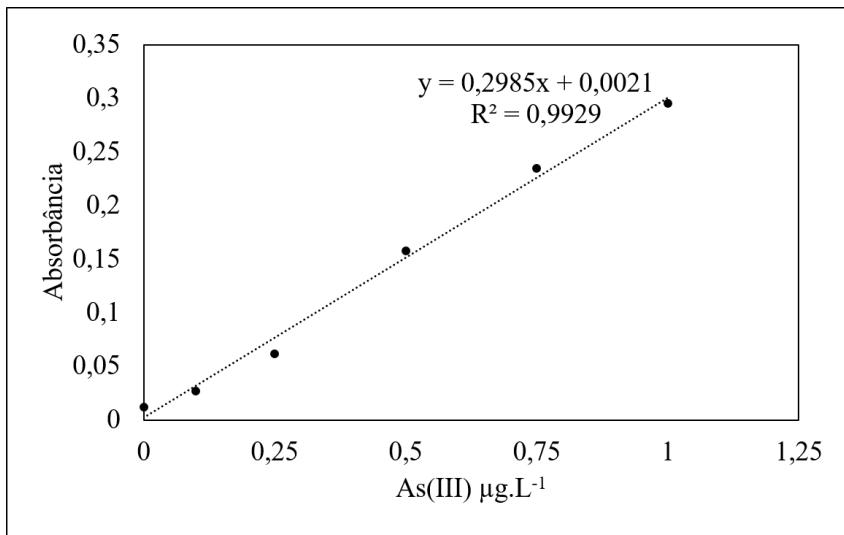
Fator de Interferência			
Interferente	[EDTA] (mol.L <sup>-1</sup> )		
	0,02	0,05	0,1
Fe (III)	0,70	0,77	0,93
Hg (II)	0,82	0,87	0,96

## 5.7 Figuras de mérito

A eficiência da pré-concentração foi avaliada por meio do fator de enriquecimento (FE). Este fator foi determinado através da construção de uma curva analítica de calibração obtida com As(III) na faixa de 0,1 - 1,0  $\mu$ .L<sup>-1</sup> com procedimento de extração por ponto nuvem, Figura 30, e uma outra compreendendo a mesma faixa de concentração sem o procedimento de extração e pré-concentração, Figura 31 .

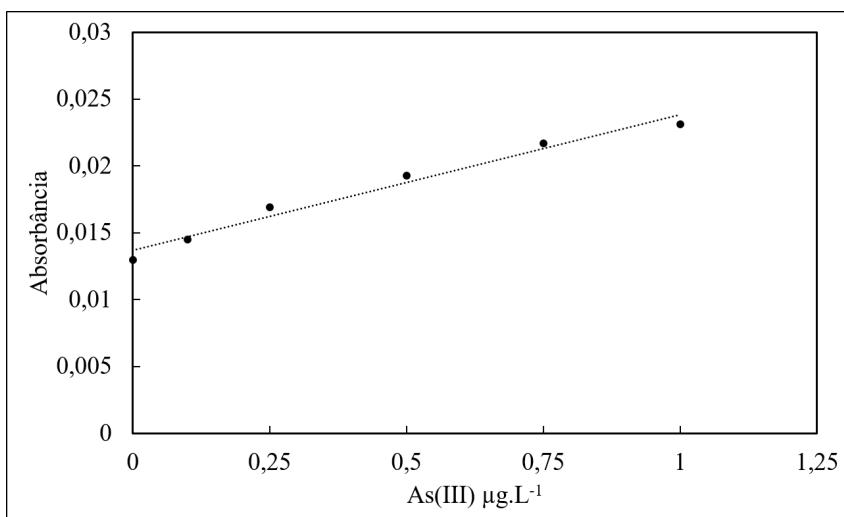
Os coeficientes angulares das curvas de calibração com e sem o procedimento de extração e pré-concentração foram respectivamente 0,2985 e 0,0054, resultando em um fator de enriquecimento igual a 55. Esse ganho adicional de sensibilidade no método CPE-FIA-HG FAAS sob as condições ótimas experimentais, refletiram na obtenção de baixos valores para os limites de detecção e quantificação, respectivamente, iguais a 0,052 e 0,17  $\mu$ g.L<sup>-1</sup>. Com esses valores foi possível aplicar o método na determinação de níveis baixos de arsênio em amostras analisadas.

Figura 30 – Curva analítica de calibração do As(III) com pré-concentração.



Fonte: (Autor).

Figura 31 – Curva analítica de calibração do As(III) sem pré-concentração.



Fonte: (Autor).

A curva de calibração obtida pela metodologia desenvolvida apresentou uma faixa linear de trabalho com coeficiente de correlação maior do que 0,99 e faixa linear de trabalho de  $0,17 - 1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ . A precisão do método foi avaliada pelo desvio padrão relativo (DPR), calculado a partir de dez determinações para a concentração de  $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  e este apresentou um valor de 3,4%. A Tabela 24 apresenta as figuras de mérito para o método proposto.

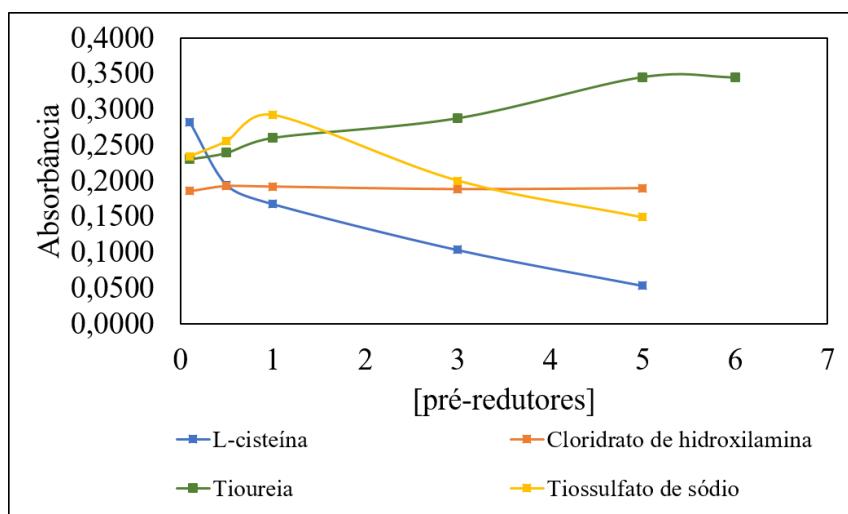
Tabela 24 – Figuras de mérito

	Sem pré-concentração	Com pré-concentração
Equação de calibração	$\text{Abs} = 0,0054x + 0,0077$	$\text{Abs} = 0,2985x + 0,0021$
Coeficiente de correlação ( $R^2$ )	0,9751	0,9929
LD ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0,216	0,052
LQ ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0,72	0,17

## 5.8 Exatidão e aplicação do método

Antes de realizar a determinação de As total nas condições otimizadas é necessário que a espécie de As(V) seja previamente reduzida a As(III) antes da detecção. Diante disso, foram avaliados os pré-redutores tiosulfato de sódio (ULUSOY *et al.*, 2011), tioureia (ZHANG *et al.*, 2013), L-cisteína (JIANG *et al.*, 2009) e cloridrato de hidroxilamina (NIEDZIELSKI; SIEPAK, 2003) em diferentes concentrações. O valor de absorbância com o uso dos pré-redutores foi comparado com o valor de absorbância para a concentração de  $5 \mu\text{g.L}^{-1}$  de As(III) sem o uso do pré-redutor, cujo valor é de aproximadamente 0,38. Os resultados estão apresentados na Figura 32.

Figura 32 – Estudo de pré-redutores para As(V)



As (III) e As (V) =  $2,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ ; APDC = 0,70% m/v; Triton X-114 = 0,21% m/v; NaCl = 0,52% m/v; Antiespumante = 2,3% m/v; NaBH<sub>4</sub> = 0,50 % m/v; HCl = 1,3 mol.L<sup>-1</sup>; volume de amostra e NaBH<sub>4</sub> = 0,33 mL; volume de HCl = 0,36 mL. Fonte: (Autor).

Para a L-cisteína, observa-se que na concentração de 0,2% m/v há uma redução considerável de As(V), porém, com o aumento da concentração, há um decréscimo do sinal analítico, que pode ser devido à interação do grupo tiol da molécula da L-cisteína com As(III), que impede a formação da arsina e consequentemente reduz o sinal analítico. O mesmo comportamento é observado para o tiosulfato de sódio, que reduz o As(V) consideravelmente na concentração de 1% m/v, mas para concentrações maiores provoca um decréscimo no sinal, afetando também a determinação de As(III).

O cloridrato de hidroxilamina não afeta a determinação de As(III), porém não provoca redução da espécie pentavalente, pois o valor de absorbância permanece praticamente constante.

A tioureia foi o redutor que apresentou melhor resultado, sendo que praticamente todo As(V) foi reduzido à As(III) utilizando a concentração de 5% m/v do redutor. Observa-se também que a determinação de As(III) não é afetada, pois não há queda do sinal analítico em nenhuma das concentrações avaliadas. Sendo assim, foi escolhido para a determinação de arsênio total a partir da redução da espécie pentavalente à espécie trivalente.

Portanto, para a determinação de arsênio total e posterior quantificação de As(V), o extrato obtido na digestão ácida foi submetido a uma etapa de pré-redução, na qual foi adicionado à amostra uma alíquota de solução de tioureia de concentração igual a 5% m/v e pH 2, com ajuste de pH utilizando HCl.

A porcentagem de recuperação (%Rec) obtida compreende o intervalo de 89,73 – 102,6% e foi calculado de acordo com a Equação 5.11.

$$\%Rec = \frac{C_{As(III)adicionada}}{C_{As(III)amostra}} \times 100 \quad (5.11)$$

Os valores calculados indicam que o procedimento aplicado não apresentou efeito de matriz, pois os valores se enquadram dentro da faixa de 80 - 120%, (AOAC International, 2014).

Valores guia de qualidade de sedimentos são importantes ferramentas para predição de contaminação nessa matriz. Embora não sejam valores definitivos de toxicidade, estes podem identificar áreas que possam apresentar potenciais efeitos adversos à biota.

No Brasil, a Resolução CONAMA nº 344/2004 (2004) estabeleceu critérios para sedimentos a serem dragados e dispostos em águas nacionais. Essa norma estipula dois valores de referência principais para arsênio: um limiar abaixo do qual provavelmente não se observa efeito adverso à biota que corresponde a  $5,9 \mu\text{g.g}^{-1}$  e o valor acima do qual provavelmente será observado efeito adverso à biota, correspondendo a  $17,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ .

A Tabela 25 apresenta os resultados da análise de sedimentos em seis pontos coletados na Bacia Hidrográfica do Rio Doce.

Tabela 25 – Resultado da determinação de arsênio nas amostras de sedimento da Bacia Hidrográfica do Rio Doce.

<b>Ponto de coleta</b>	<b>As total (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>	
	<b>2014</b>	<b>2015</b>
1	0,52	5,01
2	1,29	2,58
3	1,43	4,28
4	12,31	17,68
5	10,79	12,07
6	12,87	14,00

Dos pontos coletados, o único que apresentou concentração de arsênio que pode provocar um efeito adverso à biota é o ponto 4. As concentrações indicam que pode ser uma região que possui um enriquecimento de origem geogênica ou outros fatores contribuem para a liberação de arsênio neste ponto, pelos valores observados no ano de 2014, porém, os rejeitos liberados no rompimento da barragem provavelmente possuem arsênio em sua composição, pois há um aumento na concentração das espécies no ano de 2015, após o acidente da mineradora.

Os pontos 4, 5 e 6 apresentam valores acima do limite mínimo que não observa um efeito

sobre o ambiente aquático, que pode ser devido à atividade mineradora, como também por outras interferências antropogênicas.

A Tabela 26 apresenta uma comparação entre os parâmetros analíticos obtidos com a metodologia desenvolvida neste trabalho com os das publicações reportadas na literatura.

Tabela 26 – Comparaçao dos métodos publicados e o método deste trabalho

Espécies	Complexante	Método de detecção	Sistema experimental	LD $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	Fator de enriquecimento	DPR %	Ref.
As(III) e As(V)	Molibdato	ETAAS	CPE Triton X-114	0,01	52,5	5,0	[1]
As(III)	APDC	ETAAS	CPE Triton X-114	0,04	36,0	3,0	[2]
As(III) e As total	APDC	ETAAS	CPE Triton X-114	0,02	40,0	2,3	[3]
As(III) e As(V)	APDC	GFAAS	Extração líquido-líquido	0,036	45,0	3,1	[4]
As(III) e As(V)	Pironine B	HGAAS	CPE Triton X-114	0,008	60,0	3,5	[5]
As(III) e As total	APDC	HGAAS	CPE Triton X-114	0,052	55,0	3,4	[6]

[1](SHEMIRANI; BAGHDADI; RAMEZANI, 2005); [2](TANG; DING; YAN, 2005); [3](BAIG *et al.*, 2009);  
[4](LIANG; PENG; YAN, 2009); [5](ULUSOY *et al.*, 2011); [6](Este trabalho).

Os dados do presente método apresentam sensibilidade e precisão concordantes aos demais métodos, principalmente por apresentar excelente fator de pré-concentração. Comparando com as demais técnicas, a geração de hidreto por análise em fluxo é uma técnica que apresenta baixo custo e de fácil acesso aos laboratórios de pesquisa e juntamente com a extração por ponto nuvem, tornam o trabalho proposto como uma ótima alternativa para determinação de arsênio em amostras de sedimentos.



CAPÍTULO  
6

## CONCLUSÃO

---

Os acessórios necessários para a análise por injeção em fluxo são facilmente adquiridos e a cela de atomização é um material durável e por isso não encarece o método, demonstrando que o procedimento desenvolvido é relativamente simples e de fácil operação.

Com o emprego do planejamento fatorial e a metodologia da superfície de resposta para a otimização das variáveis, foi possível verificar quais delas apresentaram efeito significativo na extração por ponto nuvem, bem como suas interações. Além disso, foi possível obter as condições que apresentam melhores resultados com reduzido número de experimentos e pouca geração de resíduo, permitindo que o método proposto seja empregado na determinação de arsênio total e também para análise de especiação, uma vez que a extração foi quantitativamente seletiva para As(III).

Com a avaliação dos sedimentos coletados antes e após o acidente com a barragem de rejeitos de mineração, observa-se que houve um aumento da concentração das espécies de arsênio após o acidente, como também foi observado que em alguns pontos a concentração de arsênio já era maior que o limite mínimo considerado pela legislação nacional para não causar efeitos ao ecossistema aquático. Isso foi possível porque o sistema em fluxo combinado à técnica de geração de hidreto após a extração por ponto nuvem apresentou aumento expressivo na sensibilidade com limite de quantificação menor que os valores máximos exigidos pela legislação do Brasil, permitindo que o método proposto seja aplicado para determinar arsênio inorgânico em sedimentos com bons valores de precisão e com exatidão aceitável.



## REFERÊNCIAS

---



---

- ABDUL, K. S. M.; JAYASINGHE, S. S.; CHANDANA, E. P.; JAYASUMANA, C.; SILVA, P. M. C. D. Arsenic and human health effects: A review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Elsevier, v. 40, n. 3, p. 828 – 846, 2015. ISSN 1382-6689. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2015.09.016>. Citado na página 30.
- ACGIH. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices.** 7th. ed. Cincinnati: ACGI Signature Publications, 2003. ISBN 978-1-607260-37-0. Citado na página 30.
- AKTER, K. F.; CHEN, Z.; SMITH, L.; DAVEY, D.; NAIDU, R. Speciation of arsenic in ground water samples: A comparative study of CE-UV, HG-AAS and LC-ICP-MS. **Talanta**, Elsevier, v. 68, n. 2, p. 406 – 415, 2005. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.011>. Citado na página 32.
- ALI, I.; JAIN, C. K. Advances in arsenic speciation techniques. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, Taylor & Francis, v. 84, n. 12, p. 947–964, 2004. ISSN 1369-1619. <https://doi.org/10.1080/03067310410001729637>. Citado na página 36.
- ALVARENGA, M. I. N.; ALMEIDA, M. R. R. E. Avaliação de impactos ambientais. In: **Ciências Ambientais para Engenharia**. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2015. cap. 7, p. 193 – 220. ISBN 978-85-352-7739-5. Citado na página 23.
- ANA:Agência Nacional de Águas. **Monitoramento especial do Rio Doce**. 2015. Disponível em: <<http://www2.ana.gov.br/Paginas/Riodoce/default.aspx>>. Acesso em: 2016-11-29. Citado 3 vezes nas páginas 34, 89 e 90.
- ANAWAR, H. M. Arsenic speciation in environmental samples by hydride generation and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, Elsevier, v. 88, p. 30 – 42, 2012. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.11.068>. Citado na página 42.
- AOAC International. **Official Methods Of Analysis of AOAC International**. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 2014. ISBN 0-935584-87-0. Citado na página 94.
- ARAIN, S. S.; KAZI, T. G.; AFRIDI, H. I.; NAEEMULLAH; BRAHMAN, K. D.; TALPUR, F. N.; PANHWAR, A. H.; ALI, J.; SHAH, F. Arsenic speciation in artificial saliva extract of smokeless tobacco products by extraction methodologies coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 124, p. 290 – 295, 2016. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2015.09.002>. Citado na página 88.
- BAHADORI, A. Chapter 4 - gas–liquid separators. In: BAHADORI, A. (Ed.). **Natural Gas Processing**. Boston: Gulf Professional Publishing, 2014. p. 151 – 222. ISBN 978-0-08-099971-5. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-099971-5.00004-0>. Citado na página 57.
- BAIG, J. A.; KAZI, T. G.; SHAH, A. Q.; ARAIN, M. B.; AFRIDI, H. I.; KANDHRO, G. A.; KHAN, S. Optimization of cloud point extraction and solid phase extraction methods for speciation of arsenic in natural water using multivariate technique. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier,

v. 651, n. 1, p. 57 – 63, 2009. ISSN 0003-2670. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2009.07.065>. Citado na página 95.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**. 4th. ed. Porto Alegre: Bookmam, 2011. 844 p. ISBN 9788577808489. Citado na página 29.

BAKER, J. A.; AYAD, F. K.; MAITHAM, S. A. Influence of various parameters on the levels of arsenic in washed scalp hair from Karbala, Iraq by using ICP-OES technique. **Karbala International Journal of Modern Science**, Elsevier, v. 2, n. 2, p. 104 – 112, 2016. ISSN 2405-609X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.kijoms.2016.02.004>. Citado na página 40.

BALUJA-SANTOS, C.; GONZALEZ-PORTAL, A. Application of hydride generation to atomic-absorption spectrometric analysis of wines and beverages: A review. **Talanta**, Elsevier, v. 39, n. 4, p. 329 – 339, 1992. ISSN 0039-9140. [http://dx.doi.org/10.1016/0039-9140\(92\)80145-4](http://dx.doi.org/10.1016/0039-9140(92)80145-4). Citado na página 47.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2001. ISBN 85-268-0544-4. Citado 7 vezes nas páginas 48, 49, 60, 61, 75, 76 e 78.

BATISTA, B. L. **Desenvolvimento de métodos rápidos de preparo de amostras para especificação química de arsênio em alimentos por LC-ICP-MS e avaliação das concentrações e do metabolismo em arroz**. Tese (phD thesis) — Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP, 6 2012. Citado na página 54.

BAVAZZANO, P.; PERICO, A.; ROSENDALH, K.; APOSTOLI, P. Determination of urinary arsenic by solvent extraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. a comparison with directly coupled high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, Royal Society of Chemistry, v. 11, n. 7, p. 521–524, 1996. ISSN 0267-9477. <http://dx.doi.org/10.1039/JA9961100521>. Citado na página 39.

BESSELL-BROWNE, P.; NEGRI, A. P.; FISHER, R.; CLODE, P. L.; DUCKWORTH, A.; JONES, R. Impacts of turbidity on corals: The relative importance of light limitation and suspended sediments. **Marine Pollution Bulletin**, Elsevier, v. 117, n. 1–2, p. 161 – 170, 2017. ISSN 0025-326X. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.050>. Citado na página 23.

BETTENCOURT, A. M.; DUARTE, M. F.; FLORÊNCIO, M. H.; HENRIQUES, F. F.; MADEIRA, P. A.; PORTELA, M. I.; VILAS-BOAS, L. F. Possible key intermediates in arsenic biochemistry: Synthesis and identification by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry and high resolution mass spectrometry. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 99, n. 2, p. 218 – 234, 2011. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2011.05.007>. Citado na página 40.

BONG, W. S. K.; NAKAI, I.; FURUYA, S.; SUZUKI, H.; ABE, Y.; OSAKA, K.; MATSUMOTO, T.; ITOU, M.; IMAI, N.; NINOMIYA, T. Development of heavy mineral and heavy element database of soil sediments in Japan using synchrotron radiation X-ray powder diffraction and high-energy (116 keV) X-ray fluorescence analysis: 1. Case study of Kofu and Chiba region. **Forensic Science International**, Elsevier, v. 220, n. 1–3, p. 33 – 49, 2012. ISSN 0379-0738. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.01.024>. Citado na página 32.

Bowker Associates, Science & Research In The Public Interest. **Samarco dam failure largest by far in recorded history.** 2015. Disponível em: <<https://lindsaynewlandbowker.wordpress.com/2015/12/12/samarco-dam-failure-largest-by-far-in-recorded-history>>. Acesso em: 2015-10-08. Citado na página 26.

BRAMAN, R. S.; JUSTEN, L. L.; FOREBACK, C. C. Direct volatilization spectral emission type detection system for nanogram amounts of arsenic and antimony. **Analytical Chemistry**, ACS Publications, v. 44, n. 13, p. 2195 – 2199, 1972. ISSN 1520-6882. <http://dx.doi.org/110.1021/ac60321a01>. Citado na página 80.

CAI, X.; ZHANG, Z.; YIN, N.; DU, H.; LI, Z.; CUI, Y. Comparison of arsenate reduction and release by three As(V)-reducing bacteria isolated from arsenic-contaminated soil of Inner Mongolia, China. **Chemosphere**, Elsevier, v. 161, p. 200 – 207, 2016. ISSN 0045-6535. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.102>. Citado na página 29.

CAMPILLO, N.; PEÑALVER, R.; VIÑAS, P.; LÓPEZ-GARCÍA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Speciation of arsenic using capillary gas chromatography with atomic emission detection. **Talanta**, Elsevier, v. 77, n. 2, p. 793 – 799, 2008. ISSN 0039-9140. 14th International Conference on Flow Injection Analysis and Related Techniques. Citado na página 35.

CAO, J.; PENG, L. Q.; DU, L. J.; ZHANG, Q. D.; XU, J. J. Ultrasound-assisted ionic liquid-based micellar extraction combined with microcrystalline cellulose as sorbent in dispersive microextraction for the determination of phenolic compounds in propolis. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 963, p. 24 – 32, 2017. ISSN 0003-2670. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.063>. Citado na página 45.

CASTRO, M. L.; RUIZ-JIMÉNEZ, J. Flow Injection Analysis instrumentation. In: **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**. Córdoba: Elsevier, 2013. p. 1–10. ISBN 978-0-12-409547-2. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.00150-5>. Citado na página 43.

CBH-DOCE. **A BACIA**. 2014. Disponível em: <<http://www.cbhdoce.org.br/a-bacia>>. Acesso em: 2015-10-08. Citado na página 35.

CHAUSSEAU, M.; ROUSSEL, C.; GILON, N.; MERMET, J. M. Optimization of HPLC-ICP-AES for the determination of arsenic species. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, Springer, v. 366, n. 5, p. 476–480, 2000. ISSN 1432-1130. <https://doi.org/10.1007/s002160050096>. Citado na página 40.

CHAVEZ, A. P.; JOHNSON, B.; FERNANDES, F.; SIROTHEAU, G. J. C.; LIMA, M. H. R.; BARRETO, M. L.; BÔAS, R. C. V.; NAHASS, S. **Mineração e Desenvolvimento Sustentável: Desafios para o Brasil**. Rio de Janeiro: Maria Laura Barreto, 2001. 4–8 p. ISBN 85-7227-160-0. Citado na página 23.

CHEN, M.; HUO, Y.; WANG, J. Speciation of inorganic arsenic in a sequential injection dual mini-column system coupled with hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Talanta**, Elsevier, v. 78, n. 1, p. 88–93, 2009. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2008.10.060>. Citado na página 71.

CHEREM, L. F. S. **Morfo pedogênese das bordas dos planaltos escalonados do sudeste mineiro**. Tese (phD thesis) — Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP, 10 2012. Citado na página 34.

CHMIEL, T.; KUPSKA, M.; WARDENCKI, W.; NAMIEŚNIK, J. Application of response surface methodology to optimize solid-phase microextraction procedure for chromatographic determination of aroma-active monoterpenes in berries. **Food Chemistry**, Elsevier, v. 221, p. 1041 – 1056, 2017. ISSN 0308-8146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.057>. Citado na página 45.

COELHO, A. L. N. **Alterações hidrogeomorfológicas no médio-baixo Rio Doce/ES 2007**. Tese (Doutorado) — Universidade Federal Fluminense. Instituto de Geociências, Departamento de Geografia, Niterói, 2007. Citado na página 33.

COELHO, L. M.; ARRUDA, M. A. Z. Preconcentration procedure using cloud point extraction in the presence of electrolyte for cadmium determination by flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Elsevier, v. 60, n. 5, p. 743 – 748, 2005. ISSN 0584-8547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2005.02.016>. Citado na página 60.

CONAMA nº 344/2004. **Resolução nº 344 de 25 de março de 2004. Estabelece diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências**. 2004. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=445>>. Acesso em: 2017-06-01. Citado na página 94.

COSTA, C. N. **Biodisponibilidade de metais pesados em solos do Rio Grande do Sul**. Tese (Doutorado) — Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, São Paulo, 2002. Citado na página 33.

CRNKOVIĆ, D. M.; ANTANASIJEVIĆ, D. Z.; POCAJT, V. V.; PERIĆ-GRUJIĆ, A. A.; ANTONOVIĆ, D.; RISTIĆ, M. . Unsupervised classification and multi-criteria decision analysis as chemometric tools for the assessment of sediment quality: A case study of the Danube and Sava River. **CATENA**, v. 144, p. 11 – 22, 2016. ISSN 0341-8162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2016.04.025>. Citado na página 26.

DADOS, A.; KARTSIOULI, E.; CHATZIMITAKOS, T.; PAPASTEPHANOU, C.; STALIKAS, C. In situ trapping of As, Sb and Se hydrides on nanometer-sized ceria-coated iron oxide–silica and slurry suspension introduction to ICP-OES. **Talanta**, Elsevier, v. 130, p. 142 – 147, 2014. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.06.046>. Citado na página 25.

DEDINA, J.; TSALEV, D. L. **Hydride generation atomic absorption spectrometry**. Chichester: John Wiley, 1995. 544 p. ISBN 978-0-471-95364-7. Citado na página 25.

DENG, B.; QIN, X.; XIAO, Y.; WANG, Y.; YIN, H.; XU, X.; SHEN, C. Interface of on line coupling capillary electrophoresis with hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry and its application to arsenic speciation in sediment. **Talanta**, Elsevier, v. 109, p. 128 – 132, 2013. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.01.059>. Citado na página 38.

DIXIT, G.; SINGH, A. P.; KUMAR, A.; MISHRA, S.; DWIVEDI, S.; KUMAR, S.; TRIVEDI, P. K.; PANDEY, V.; TRIPATHI, R. D. Reduced arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) shoot involves sulfur mediated improved thiol metabolism, antioxidant system and altered arsenic transporters. **Plant Physiology and Biochemistry**, p. 86 – 96, 2016. ISSN 0981-9428. <http://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.11.005>. Citado na página 70.

- DONAHUE, C. M.; BLACK, I. K.; PECNIK, S. L.; SAVAGE, T. R.; SCOTT, B. L.; DALY, S. R. Synthesis, characterization and structural comparisons of phosphonium and arsenic dithiocarbamates with alkyl and phenyl substituents. **Polyhedron**, Elsevier, v. 75, p. 110 – 117, 2014. ISSN 0277-5387. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.03.003>. Citado 2 vezes nas páginas 59 e 69.
- DUARTE, F. A. **Determinação de espécies de arsênio por LC-ICP-MS**. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, 2006. Citado 2 vezes nas páginas 27 e 30.
- D'ULIVO, A. Chemical vapor generation by tetrahydroborate(III) and other borane complexes in aqueous media: A critical discussion of fundamental processes and mechanisms involved in reagent decomposition and hydride formation. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Elsevier, v. 59, n. 6, p. 793 – 825, 2004. ISSN 0584-8547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2004.04.001>. Citado na página 80.
- D'ULIVO, A.; BAIOCCHI, C.; PITZALIS, E.; ONOR, M.; ZAMBONI, R. Chemical vapor generation for atomic spectrometry. A contribution to the comprehension of reaction mechanisms in the generation of volatile hydrides using borane complexes. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Elsevier, v. 59, n. 4, p. 471–486, 2004. ISSN 0584-8547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2003.12.004>. Citado na página 42.
- D'ULIVO, A.; DEDINA, J.; MESTER, Z.; STURGEON, R. E.; WANG, Q.; WELZ, B. Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, IUPAC, v. 83, n. 3, p. 1283 – 1340, 2011. ISSN 1365-3075. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2013.02.014>. Citado na página 81.
- D'ULIVO, A.; MESTER, Z.; MEIJA, J.; STURGEON, R. E. Mechanism of generation of volatile hydrides of trace elements by aqueous tetrahydroborate (III). Mass spectrometric studies on reaction products and intermediates. **Analytical chemistry**, ACS Publications, v. 79, n. 7, p. 3008–15, 2007. ISSN 1520-6882. <http://dx.doi.org/1520-6882>. Citado na página 42.
- D'ULIVO, A.; MESTER, Z.; STURGEON, R. E. The mechanism of formation of volatile hydrides by tetrahydroborate (III) derivatization: A mass spectrometric study performed with deuterium labeled reagents. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Elsevier, v. 60, n. 4, p. 423 – 438, 2005. ISSN 0584-8547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2005.03.015>, publisher = "Elsevier". Citado na página 42.
- EIRAS, S. P.; COSCIONE, A. R.; CUSTODIO, R.; ANDRADE, J. C. d. **Métodos de otimização em química**. 2000. Disponível em: <<http://chemkeys.com/en/2000/03/01/optimization-methods-in-chemistry>>. Acesso em: 2016-09-22. Citado 4 vezes nas páginas 48, 60, 61 e 78.
- ERDOĞAN, H.; YALÇINKAYA, Ö.; TÜRKER, A. R. Determination of inorganic arsenic species by hydride generation atomic absorption spectrometry in water samples after preconcentration/separation on nano zr<sub>2</sub>/b<sub>2</sub>O<sub>3</sub> by solid phase extraction. **Desalination**, Elsevier, v. 280, n. 1–3, p. 391 – 396, 2011. ISSN 0011-9164. <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2011.07.029>. Citado na página 47.
- EUCLYDES, H. P.; FERREIRA, P. A.; FARIA FILHO, R. F.; OLIVEIRA, E. P. de. **Atualização dos estudos hidrológicos na bacia hidrográfica do rio Doce**. 2011. Disponível em: <[http://www.atlasdasaguas.ufv.br/doce/resumo\\_doce.html](http://www.atlasdasaguas.ufv.br/doce/resumo_doce.html)>. Acesso em: 2016-03-22. Citado na página 34.

FANG, Y.; PAN, Y.; LI, P.; XUE, M.; PEI, F.; YANG, W.; MA, N.; HU, Q. Simultaneous determination of arsenic and mercury species in rice by ion-pairing reversed phase chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. **Food Chemistry**, Elsevier, v. 213, p. 609 – 615, 2016. ISSN 0308-8146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.003>. Citado na página 37.

FARÍAS, S. S.; LONDONIO, A.; QUINTERO, C.; BEFANI, R.; SORO, M.; SMICHOWSKI, P. On-line speciation and quantification of four arsenical species in rice samples collected in Argentina using a HPLC–HG–AFS coupling. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 120, p. 34–39, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.12.010>. Citado na página 25.

FARIA, A. M.; QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVEZ, A. A. Extração por ponto nuvem: técnica alternativa para a extração de resíduos de agrotóxicos. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Public Knowledge Project, v. 15, p. 29–42, 2005. ISSN 1983-9847. <http://dx.doi.org/10.5380/pes.v15i0.4501>. Citado na página 47.

FAYIGA, A. O.; SAHA, U. K. Arsenic hyperaccumulating fern: Implications for remediation of arsenic contaminated soils. **Geoderma**, Elsevier, v. 284, p. 132 – 143, 2016. ISSN 0016-7061. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.09.003>. Citado na página 27.

GETTAR, R.; GARAVAGLIA, R.; GAUTIER, E.; BATISTONI, D. Determination of inorganic and organic anionic arsenic species in water by ion chromatography coupled to hydride generation–inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 884, n. 1–2, p. 211 – 221, 2000. ISSN 0021-9673. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00279-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00279-X). Citado na página 40.

GONG, Z.; LU, X.; MA, M.; WATT, C.; LE, X. Arsenic speciation analysis. **Talanta**, Elsevier, v. 58, n. 1, p. 77 – 96, 2002. ISSN 0039-9140. [http://dx.doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00258-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00258-8). Citado 2 vezes nas páginas 38 e 40.

GRIJALBA, A. C.; FIORENTINI, E. F.; MARTINEZ, L. D.; WUILLOUD, R. G. A comparative evaluation of different ionic liquids for arsenic species separation and determination in wine varietals by liquid chromatography – hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 1462, p. 44–54, 2016. ISSN 0021-9673. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.07.069>. Citado na página 25.

GRIJALBA, A. C.; FIORENTINI, E. F.; WUILLOUD, R. G. Ionic liquid-assisted separation and determination of selenium species in food and beverage samples by liquid chromatography coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 1491, p. 117 – 125, 2017. ISSN 0021-9673. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.02.045>. Citado na página 25.

GRÜTER, U. M.; KRESIMON, J.; HIRNER, A. V. A new HG/LT-GC/ICP-MS multi-element speciation technique for real samples in different matrices. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Springer, v. 368, n. 1, p. 67–72, 2000. ISSN 1432-1130. <https://doi.org/10.1007/s002160000443>. Citado na página 36.

GUERRERO, M. L.; CORDERO, M. S.; ALONSO, E. V.; TORRES, A. G.; PAVÓN, J. C. Cold vapour generation electrothermal atomic absorption spectrometry and solid phase extraction based on a new nanosorbent for sensitive Hg determination in environmental samples (sea water and river water). **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 132, p. 274 – 279, 2017. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2017.02.012>. Citado na página 25.

- HAGIWARA, K.; INUI, T.; KOIKE, Y.; AIZAWA, M.; NAKAMURA, T. Speciation of inorganic arsenic in drinking water by wavelength-dispersive X-ray fluorescence spectrometry after in situ preconcentration with miniature solid-phase extraction disks. *Talanta*, v. 134, p. 739 – 744, 2015. ISSN 0039-9140. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.12.027>. Citado na página 25.
- HANNA, C. P.; TYSON, J. F.; MCINTOSH, S. Determination of inorganic arsenic and its organic metabolites in urine by flow-injection hydride generation atomic absorption spectrometry. *Clinical Chemistry*, The American Association for Clinical Chemistry, v. 39, n. 8, p. 1662 – 1667, 1993. ISSN 0009-9147. Citado na página 47.
- HEITLAND, P.; BLOHM, M.; BREUER, C.; BRINKERT, F.; ACHILLES, E. G.; PUKITE, I.; KÖSTER, H. D. Application of ICP-MS and HPLC-ICP-MS for diagnosis and therapy of a severe intoxication with hexavalent chromium and inorganic arsenic. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, Elsevier, v. 41, p. 36 – 40, 2017. ISSN 0946-672X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.02.008>. Citado na página 40.
- HEPP, L. U.; PRATAS, J. A.; GRACA, M. A. Arsenic in stream waters is bioaccumulated but neither biomagnified through food webs nor biodispersed to land. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Elsevier, v. 139, p. 132 – 138, 2017. ISSN 0147-6513. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.01.035>. Citado na página 24.
- HESSE, S.; RISTAU, T.; EINAX, J. W. Chemical vapor generation by coupling high-pressure liquid flow injection to high-resolution continuum source hydride generation atomic absorption spectrometry for determination of arsenic. *Microchemical Journal*, Elsevier, v. 123, p. 42 – 50, 2015. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2015.04.023>. Citado na página 25.
- HOLAK, W. Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry. *Analytical Chemistry*, ACS Publications, v. 41, n. 12, p. 1712–1713, 1969. ISSN 1520-6882. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60281a025>. Citado na página 42.
- HOROWITZ, A. J. **A primer on sediment-trace element chemistry**. 2nd. ed. Denver: CRC Press, 1991. 2–34 p. ISBN 9780873714990. Citado na página 24.
- HU, S.; LU, J.; JING, C. A novel colorimetric method for field arsenic speciation analysis. *Journal of Environmental Sciences*, Elsevier, v. 24, n. 7, p. 1341 – 1346, 2012. ISSN 1001-0742. [http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742\(11\)60922-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742(11)60922-4). Citado na página 41.
- IARC. **Biological agents: a review of human carcinogens**. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2012. ISBN 9789283213192. Citado na página 30.
- ILANDER, A.; VÄISÄNEN, A. The determination of antimony and arsenic concentrations in fly ash by hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, Elsevier, v. 689, n. 2, p. 178 – 183, 2011. ISSN 0003-2670. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2011.01.043>. Citado na página 25.
- INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos: documento de caráter orientativo**. Brasil, 2011. Citado na página 65.
- IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology**. 2014. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org>>. Acesso em: 2017-03-22. Citado na página 31.

JESUS, R. M.; SILVA, L. O.; CASTRO, J. T.; AZEVEDO NETO, A. D.; JESUS, R. M. de; FERREIRA, S. L. Determination of mercury in phosphate fertilizers by cold vapor atomic absorption spectrometry. **Talanta**, Elsevier, v. 106, p. 293 – 297, 2013. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2012.11.001>. Citado na página 32.

JIANG, H.; HU, B.; CHEN, B.; XIA, L. Hollow fiber liquid phase microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the speciation of arsenic (III) and arsenic (V) in fresh waters and human hair extracts. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 634, n. 1, p. 15 – 21, 2009. ISSN 0003-2670. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2008.12.008>. Citado na página 93.

JIANG, Y.; HE, M. Y.; ZHANG, W. J.; LUO, P.; GUO, D.; FANG, X.; XU, W. Recent advances of capillary electrophoresis-mass spectrometry instrumentation and methodology. **Chinese Chemical Letters**, Elsevier, 2017. ISSN 1001-8417. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2017.05.008>. Citado na página 38.

JITARU, P.; MILLOUR, S.; ROMAN, M.; KOULALI, K. E.; NOËL, L.; GUÉRIN, T. Exposure assessment of arsenic speciation in different rice types depending on the cooking mode. **Journal of Food Composition and Analysis**, Elsevier, v. 54, p. 37 – 47, 2016. ISSN 0889-1575. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.09.007>. Citado na página 24.

KAMYABI, M. A.; AGHAEI, A. Electromembrane extraction and spectrophotometric determination of As(V) in water samples. **Food Chemistry**, Elsevier, v. 212, p. 65 – 71, 2016. ISSN 0308-8146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.139>. Citado na página 41.

KANG, J. H.; JEONG JUNG, H.; YHUNG JUNG, M. One step derivatization with british anti-lewsite in combination with gas chromatography coupled to triple-quadrupole tandem mass spectrometry for the fast and selective analysis of inorganic arsenic in rice. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 934, p. 231 – 238, 2016. ISSN 0003-2670. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2016.05.046>. Citado na página 35.

KENAWY, I. M.; KHALIFA, M. E.; HASSANIEN, M. M.; ELNAGAR, M. M. Application of mixed micelle-mediated extraction for selective separation and determination of Ti(IV) in geological and water samples. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 124, p. 149 – 154, 2016. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2015.08.003>. Citado na página 45.

KRONKA, E. A. M.; REIS, B. F.; VIEIRA, J. A.; BLANCO, T.; GERVASIO, A. P. G. Multicomutação e amostragem binária em análise química em fluxo. Determinação espectrofotométrica de ortofosfato em águas naturais. **Química Nova**, Scielo, v. 20, n. 4, p. 372 – 376, 1997. ISSN 1678-7064. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421997000400006>. Citado na página 44.

KUMTABTIM, U.; MATUSCH, A.; DANI, S. U.; SIRIPINYANOND, A.; BECKER, J. S. Biomonitoring for arsenic, toxic and essential metals in single hair strands by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, Elsevier, v. 307, n. 1–3, p. 185 – 191, 2011. ISSN 1387-3806. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijms.2011.03.007>. Citado na página 32.

LEE, S.; KWEON, J. H.; KIM, H. S. Selective biodegradation of sorbitan ethoxylated surfactants by soil microorganisms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Elsevier, v. 85, p. 652 – 660, 2013. ISSN 0964-8305. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.03.020>. Citado na página 46.

- LI CHEN, M.; MA, L. Y.; WEI CHEN, X. New procedures for arsenic speciation: A review. **Talanta**, Elsevier, v. 125, p. 78 – 86, 2014. ISSN 0039-9140. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.037>. Citado na página 35.
- LI, S.; WANG, M.; ZHONG, Y.; ZHANG, Z.; YANG, B. Cloud point extraction for trace inorganic arsenic speciation analysis in water samples by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Elsevier, v. 111, p. 74 – 79, 2015. ISSN 0584-8547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2015.07.003>. Citado 2 vezes nas páginas 60 e 72.
- LI, Y.; LENG, M.; CAI, M.; HUANG, L.; CHEN, Y.; LUO, X. pH responsive micelles based on copolymers mPEG-PCL-PDEA: The relationship between composition and properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Elsevier, v. 154, p. 397 – 407, 2017. ISSN 0927-7765. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.03.045>. Citado na página 45.
- LIANG, P.; PENG, L.; YAN, P. Speciation of As(III) and As(V) in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction separation and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, Springer, v. 166, n. 1, p. 47–52, 2009. ISSN 1436-5073. <http://dx.doi.org/10.1007/s00604-009-0162-2>. Citado na página 95.
- LIEVREMONT, D.; BERTIN, P. N.; LETT, M. C. Arsenic in contaminated waters: Biogeochemical cycle, microbial metabolism and biotreatment processes. **Biochimie**, Elsevier, v. 91, n. 10, p. 1229 – 1237, 2009. ISSN 0300-9084. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2009.06.016>. Citado na página 28.
- LIU, G.; CAI, Y. Studying arsenite–humic acid complexation using size exclusion chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, Elsevier, v. 262, p. 1223 – 1229, 2013. ISSN 0304-3894. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.05.043>. Citado na página 37.
- LIU, L.; HE, B.; YUN, Z.; SUN, J.; JIANG, G. Speciation analysis of arsenic compounds by capillary electrophoresis on-line coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry using a novel interface. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 1304, p. 227 – 233, 2013. ISSN 0021-9673. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.034>. Citado na página 38.
- LIU, Y.; HE, M.; CHEN, B.; HU, B. Simultaneous speciation of inorganic arsenic, selenium and tellurium in environmental water samples by dispersive liquid liquid microextraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. **Talanta**, Elsevier, v. 142, p. 213 – 220, 2015. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.04.050>. Citado na página 45.
- LIU, Z.; YU, W.; ZHANG, H.; GU, F.; JIN, X. Salting-out homogenous extraction followed by ionic liquid/ionic liquid liquid–liquid micro-extraction for determination of sulfonamides in blood by high performance liquid chromatography. **Talanta**, Elsevier, v. 161, p. 748 – 754, 2016. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.09.006>. Citado na página 45.
- LOCK, A.; WALLSCHLÄGER, D.; MCMURDO, C.; TYLER, L.; BELZILE, N.; SPIERS, G. Validation of an updated fractionation and indirect speciation procedure for inorganic arsenic in oxic and suboxic soils and sediments. **Environmental Pollution**, Elsevier, v. 219, p. 1102 – 1108, 2016. ISSN 0269-7491. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.013>. Citado na página 31.

LOMAX, C.; LIU, W.-J.; WU, L.; XUE, K.; XIONG, J.; ZHOU, J.; MCGRATH, S. P.; MEHARG, A. A.; MILLER, A. J.; ZHAO, F. J. Methylated arsenic species in plants originate from soil microorganisms. **New Phytologist**, v. 193, n. 3, p. 665 – 672, 2012. ISSN 1469-8137. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03956.x>. Citado na página 27.

LOU, C.; WENGI LIU; XIAODONG LIU. Quantitative analysis of arsenic speciation in guano and ornithogenic sediments using microwave-assisted extraction followed by high-performance liquid chromatography coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Journal of Chromatography B**, Elsevier, v. 969, p. 29 – 34, 2014. ISSN 1570-0232. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.07.036>. Citado na página 32.

LUO, J.; XU, F.; HU, J.; LIN, P.; TU, J.; WU, X.; HOU, X. Preconcentration on metal organic framework UiO-66 for slurry sampling hydride generation-atomic fluorescence spectrometric determination of ultratrace arsenic. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 133, p. 441 – 447, 2017. ISSN 0026-265X. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.056>. Citado na página 32.

MA, L.; WANG, L.; JIA, Y.; YANG, Z. Accumulation, translocation and conversion of six arsenic species in rice plants grown near a mine impacted city. **Chemosphere**, Elsevier, v. 183, p. 44 – 52, 2017. ISSN 0045-6535. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.089>. Citado na página 27.

MAHARA, B. M.; BOROSSAY, J.; TORKOS, K. Liquid–liquid extraction for sample preparation prior to gas chromatography and gas chromatography–mass spectrometry determination of herbicide and pesticide compounds. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 58, n. 1, p. 31 – 38, 1998. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1006/mchj.1997.1517>. Citado na página 45.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, Scielo Brasil, v. 24, n. 1, p. 87–93, 2001. ISSN 1678-7064. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422001000100015>. Citado na página 46.

MANSOUR, F. R.; DANIELSON, N. D. Reverse flow-injection analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Elsevier, v. 40, p. 1 – 14, 2012. ISSN 0165-9936. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2012.06.006>. Citado na página 43.

MARCINKOWSKA, M.; BARAŁKIEWICZ, D. Multielemental speciation analysis by advanced hyphenated technique – HPLC/ICP-MS: A review. **Talanta**, Elsevier, v. 161, p. 177 – 204, 2016. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.08.034>. Citado na página 41.

MATUSIEWICZ, H.; ŚLACHCIŃSKI, M. Simultaneous determination of hydride forming elements (As, Sb, Se, Sn) and Hg in sonicate slurries of biological and environmental reference materials by hydride generation microwave induced plasma optical emission spectrometry (SS-HG-MIP-OES). **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 82, n. 1, p. 78 – 85, 2006. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2005.08.001>. Citado na página 40.

MATUSIEWICZ, H.; ŚLACHCIŃSKI, M. Development of a new hybrid technique for inorganic arsenic speciation analysis by microchip capillary electrophoresis coupled with hydride generation microwave induced plasma spectrometry. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 102, p. 61 – 67, 2012. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2011.11.010>. Citado na página 38.

MCKELVIE, I. D. Principles of flow injection analysis: Advances in flow injection analysis and related techniques. **Comprehensive Analytical Chemistry**, v. 54, p. 81 – 109, 2008. ISSN 0166-526X. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-526X\(08\)00604-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-526X(08)00604-1). Citado na página 82.

- MIHUCZ, V. G.; BENCS, L.; KONCZ, K.; TATÁR, E.; WEISZBURG, T.; ZÁRAY, G. Fast arsenic speciation in water by on-site solid phase extraction and high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Elsevier, v. 128, p. 30 – 35, 2017. ISSN 0584-8547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2016.12.010>. Citado na página 39.
- MOLDOVEANU, S. C.; DAVID, V. Chapter 7 - RP-HPLC Analytical Columns. In: MOLDOVEANU, S. C.; DAVID, V. (Ed.). **Selection of the HPLC Method in Chemical Analysis**. Boston: Elsevier, 2017. p. 279 – 328. ISBN 978-0-12-803684-6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803684-6.00007-X>. Citado na página 36.
- MOREIRA, A.; FIGUEIRA, E.; SOARES, A. M.; FREITAS, R. The effects of arsenic and seawater acidification on antioxidant and biomineralization responses in two closely related crassostrea species. **Science of The Total Environment**, Elsevier, v. 545, p. 569 – 581, 2016. ISSN 0048-9697. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.029>. Citado na página 28.
- MORETTO, A. L. **Determinação de arsênio por espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto em um sistema de injeção em fluxo**. Tese (Doutorado) — Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001. Citado na página 83.
- MORTADA, W. I.; HASSANIEN, M. M.; EL-ASMY, A. A. Cloud point extraction of some precious metals using triton X-114 and a thioamide derivative with a salting-out effect. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, Elsevier, v. 1, n. 3, p. 184 – 191, 2014. ISSN 2314-808X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejbas.2014.07.001>. Citado 2 vezes nas páginas 72 e 75.
- MURAKI, H.; HIGUCHI, K.; SASAKI, M.; KORENAGA, T.; TŌEI, K. Fully automated system for the continuous monitoring of ammonium ion in fish farming plant sea water by flow-injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 261, n. 1–2, p. 345 – 349, 1992. ISSN 0003-2670. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2670\(92\)80212-P](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2670(92)80212-P). Citado na página 43.
- NAGY, P.; BONYÁR, A.; SÁNTHA, H.; HARSÁNYI, G. The effect of elevated water sample temperature on the performance of a custom-developed colorimetric arsenic sensor. **Procedia Engineering**, v. 168, p. 1479 – 1482, 2016. ISSN 1877-7058. <http://dx.doi.org/10.1016/j.proeng.2016.11.427>. Citado na página 41.
- NAKAHARA, T. Development of gas-phase sample-introduction techniques for analytical atomic spectrometry. **Analytical Sciences**, PubMed, v. 21, n. 5, p. 477–484, 2005. ISSN 1348-2246. <http://dx.doi.org/10.2116/analsci.21.477>. Citado na página 25.
- NAKAZATO, T.; TANIGUCHI, T.; TAO, H.; TOMINAGA, M.; MIYAZAKI, A. Ion-exclusion chromatography combined with ICP-MS and hydride generation-ICP-MS for the determination of arsenic species in biological matrices. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, Royal Society of Chemistry, v. 15, n. 12, p. 1546–1552, 2000. ISSN 0267-9477. <http://dx.doi.org/10.1039/B005981L>. Citado na página 37.
- NARUKAWA, T.; CHIBA, K.; SINAVIWAT, S.; FELDMANN, J. A rapid monitoring method for inorganic arsenic in rice flour using reversed phase-high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 1479, p. 129 – 136, 2017. ISSN 0021-9673. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.001>. Citado na página 36.

NAZARI, A. M.; RADZINSKI, R.; GHAHREMAN, A. Review of arsenic metallurgy: Treatment of arsenical minerals and the immobilization of arsenic. **Hydrometallurgy**, Elsevier, 2016. ISSN 0304-386X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hydromet.2016.10.011>. Citado na página 28.

NEARING, M. M.; KOCH, I.; REIMER, K. J. Complementary arsenic speciation methods: A review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Elsevier, v. 99, p. 150 – 162, 2014. ISSN 0584-8547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2014.07.001>. Citado na página 31.

NETOPILÍK, M. Toward ideal separation by size-exclusion chromatography. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, v. 1487, p. 139 – 146, 2017. ISSN 0021-9673. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.01.038>. Citado na página 37.

NÚÑEZ, C.; ARANCIBIA, V.; GÓMEZ, M. Determination of arsenic in the presence of copper by adsorptive stripping voltammetry using pyrrolidine dithiocarbamate or diethyl dithiophosphate as chelating-adsorbent agents. Effect of CPB on the sensitivity of the method. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 126, p. 70 – 75, 2016. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2015.11.047>. Citado na página 41.

NICHOLAS, S. L.; ERICKSON, M. L.; WOODRUFF, L. G.; KNAEBLE, A. R.; MARCUS, M. A.; LYNCH, J. K.; TONER, B. M. Solid-phase arsenic speciation in aquifer sediments: A micro-X-ray absorption spectroscopy approach for quantifying trace-level speciation. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Elsevier, v. 211, p. 228 – 255, 2017. ISSN 0016-7037. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2017.05.018>. Citado na página 31.

NIEDZIELSKI, P.; SIEPAK, M. Analytical methods for determining arsenic, antimony and selenium in environmental samples. **Journal of Environmental Studies**, Polish, v. 12, n. 6, p. 653 – 667, 2003. ISSN 1025-8620. Citado na página 93.

NORDSTROM, D. K.; ALPERS, C. N.; PTACEK, C. J.; BLOWES, D. W. Negative pH and extremely acidic mine waters from iron mountain, California. **Environmental Science & Technology**, ACS Publications, v. 34, n. 2, p. 254–258, 2000. ISSN 0013-936X. <http://dx.doi.org/10.1021/es990646v>. Citado na página 27.

OCHSENKÜHN-PETROPULU, M.; VARSAMIS, J.; PARISSAKIS, G. Speciation of arsenobetaine in marine organisms using a selective leaching/digestion procedure and hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 337, n. 3, p. 323–327, 1997. ISSN 0003-2670. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670\(96\)00411-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(96)00411-4). Citado na página 27.

OREMLAND, R. S.; STOLZ, J. F. The ecology of arsenic. **Science**, PubMed, v. 300, n. 5621, p. 939 – 944, 2003. ISSN 1095-9203. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1081903>. Citado na página 29.

PALEOLOGOS, E. K. Chapter 12 - Surfactant-mediated extraction techniques. In: PENA-PEREIRA, F.; TOBISZEWSKI, M. (Ed.). **The Application of Green Solvents in Separation Processes**. [S.l.]: Elsevier, 2017. p. 349 – 375. ISBN 978-0-12-805297-6. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-805297-6.00012-7>. Citado 2 vezes nas páginas 45 e 72.

PARSONS, P. J.; BARBOSA JÚNIOR, F. Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Elsevier, v. 62, n. 9, p. 992–1003, 2007. ISSN 0584-8547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2007.03.007>. Citado na página 24.

PECCIN, E. Determinação de polifenóis totais utilizando sistemas de análise por injeção em fluxo. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, 2004. Citado na página 44.

PEREIRA, C. D.; AGUIRRE, M. Ángel.; NÓBREGA, J. A.; HIDALGO, M.; CANALS, A. Aerosol generation of as and se hydrides using a new Flow Blurring® multiple nebulizer for sample introduction in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 112, p. 82 – 86, 2014. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2013.09.006>. Citado na página 80.

PERGANTIS, S. A.; WINNIK, W.; HEITHMAR, E. M.; CULLEN, W. R. Investigation of arsine-generating reactions using deuterium-labeled reagents and mass spectrometry. **Talanta**, Elsevier, v. 44, n. 11, p. 1941 – 1947, 1997. ISSN 0039-9140. [http://dx.doi.org/10.1016/S0039-9140\(96\)02079-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0039-9140(96)02079-6). Citado na página 42.

PÉTURSDÓTTIR, Á. H.; GUNNL AUGSDÓTTIR, H.; JÖRUNDSDÓTTIR, H.; MESTROT, A.; KRUPP, E. M.; FELDMANN, J. HPLC-HG-ICP-MS: a sensitive and selective method for inorganic arsenic in seafood. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Elsevier, v. 404, n. 8, p. 2185–2191, 2012. ISSN 1618-2650. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-012-6347-2>. Citado na página 25.

POHL, P.; JAMROZ, P.; WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; GREDA, K. Chemical-vapor generation of transition metals through the reaction with tetrahydroborate in recent achievements in analytical atomic spectrometry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Elsevier, v. 59, p. 144 – 155, 2014. ISSN 0165-9936. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2014.04.010>. Citado na página 42.

PŁOTKA-WASYLKA, J.; RUTKOWSKA, M.; OWCZAREK, K.; TOBISZEWSKI, M.; NAMIEŚNIK, J. Extraction with environmentally friendly solvents. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Elsevier, v. 91, p. 12 – 25, 2017. ISSN 0165-9936. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.03.006>. Citado na página 45.

PRICE, R. E.; BREUER, C.; REEVES, E.; BACH, W.; PICHLER, T. Arsenic bioaccumulation and biotransformation in deep-sea hydrothermal vent organisms from the PACMANUS hydrothermal field, Manus Basin, PNG. **Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, Elsevier, v. 117, p. 95 – 106, 2016. ISSN 0967-0637. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2016.08.012>. Citado na página 24.

RATTANACHONGKIAT, S.; MILLWARD, G. E.; FOULKES, M. E. Determination of arsenic species in fish, crustacean and sediment samples from thailand using high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). **Journal of Environmental Monitoring**, Royal Society of Chemistry, v. 6, n. 4, p. 254–261, 2004. ISSN 1464-0333. <http://dx.doi.org/10.1039/B312956J>. Citado na página 37.

REINHOLDS, I.; BARTKEVICS, V.; SILVIS, I. C.; VAN RUTH, S. M.; ESSLINGER, S. Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, Elsevier, v. 44, p. 56 – 72, 2015. ISSN 0889-1575. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2015.05.004>. Citado na página 26.

RIBEIRO, A. P. Determinação de elementos traço e outros de interesse em sedimentos lacustres da estação de tratamento de esgoto de Barueri, São Paulo, por ativação neutrônica.

Dissertação (Mestrado) — Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2002. Citado na página 33.

RIEUWERTS, J.; MIGHANETARA, K.; BRAUNGARDT, C.; ROLLINSON, G.; PIRRIE, D.; AZIZI, F. Geochemistry and mineralogy of arsenic in mine wastes and stream sediments in a historic metal mining area in the UK. **Science of The Total Environment**, Elsevier, v. 472, p. 226 – 234, 2014. ISSN 0048-9697. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.029>. Citado na página 24.

RODRÍGUEZ, R.; AVIVAR, J.; LEAL, L. O.; CERDÀ, V.; FERRER, L. Strategies for automating solid-phase extraction and liquid-liquid extraction in radiochemical analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Elsevier, v. 76, p. 145 – 152, 2016. ISSN 0165-9936. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.09.009>. Citado na página 45.

RODRIGUES, K. L. T.; SANSON, A. L.; QUARESMA, A. V.; GOMES, R. P.; SILVA, G. A.; AFONSO, R. J. C. F. Chemometric approach to optimize the operational parameters of ESI for the determination of contaminants of emerging concern in aqueous matrices by LC-IT-TOF-HRMS. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 117, p. 242 – 249, 2014. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2014.06.017>. Citado na página 26.

ROSSI, E.; ERREA, M. I.; CORTALEZZI, M. M. F.; STRIPEIKIS, J. Selective determination of Cr (VI) by on-line solid phase extraction FI-SPE-FAAS using an ion exchanger resin as sorbent: An improvement treatment of the analytical signal. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 130, p. 88 – 92, 2017. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2016.08.004>. Citado na página 44.

ŘUŽIČKA, J.; HANSEN, E. Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 78, n. 1, p. 145 – 157, 1975. ISSN 0003-2670. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)84761-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(01)84761-9). Citado na página 43.

ŘUŽIČKA, J.; HANSEN, E. H.; MOSBAEK, H.; KRUG, F. J. Exchange of comments: Pumping pressure and reagent consumption in flow injection analysis. **Analytical Chemistry**, ACS Publications, v. 49, n. 12, p. 1858 – 1861, 1977. ISSN 1520-6882. <http://dx.doi.org/10.1021/ac50020a055>. Citado na página 43.

ŘUŽIČKA, J.; STEWART, J.; ZAGATTO, E. Flow injection analysis : Part IV. Stream sample splitting and its application to the continuous spectrophotometric determination of chloride in brackish waters. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 81, n. 2, p. 387 – 396, 1976. ISSN 0003-2670. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)82036-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(01)82036-5). Citado na página 43.

RUZICKA, J. J. From continuous flow analysis to programmable flow injection techniques. a history and tutorial of emerging methodologies. **Talanta**, Elsevier, v. 158, p. 299 – 305, 2016. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.05.070>. Citado 2 vezes nas páginas 67 e 82.

SAHA, S.; SARKAR, P. Differential pulse anodic stripping voltammetry for detection of As (III) by chitosan-Fe(OH)<sub>3</sub> modified glassy carbon electrode: A new approach towards speciation of arsenic. **Talanta**, Elsevier, v. 158, p. 235 – 245, 2016. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.05.053>. Citado na página 41.

SAHUQUILLO, A.; RAURET, G.; REHNERT, A.; MUNTAU, H. Solid sample graphite furnace atomic absorption spectroscopy for supporting arsenic determination in sediments following

- a sequential extraction procedure. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 476, n. 1, p. 15 – 24, 2003. ISSN 0003-2670. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)01354-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(02)01354-5). Citado na página 39.
- SAJID, M. Porous membrane protected micro-solid-phase extraction: A review of features, advancements and applications. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 965, p. 36 – 53, 2017. ISSN 0003-2670. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2017.02.023>. Citado na página 45.
- SALOMONS, W.; STIGLIANI, W. M. **Biogeodynamics of pollutants in soils and sediments:risk assessment of delayed and non-linear responses**. Berlim: Springer, 1995. ISBN 978-3-642-79418-6. Citado na página 33.
- SAMADDAR, P.; SEN, K. Cloud point extraction: A sustainable method of elemental preconcentration and speciation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, Elsevier, v. 20, n. 4, p. 1209 – 1219, 2014. ISSN 1226-086X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2013.10.033>. Citado na página 46.
- SANTOS-EBINUMA, V. C.; LOPES, A. M.; CONVERTI, A.; PESSOA, A.; RANGEL-YAGUI, C. de O. Behavior of triton X-114 cloud point in the presence of inorganic electrolytes. **Fluid Phase Equilibria**, Elsevier, v. 360, p. 435 – 438, 2013. ISSN 0378-3812. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fluid.2013.09.053>. Citado 2 vezes nas páginas 72 e 75.
- SANTOS, G. M.; POZEBON, D.; CERVEIRA, C.; MORAES, D. P. Inorganic arsenic speciation in rice products using selective hydride generation and atomic absorption spectrometry (AAS). **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 133, p. 265 – 271, 2017. ISSN 0026-265X. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.025>. Citado 3 vezes nas páginas 25, 32 e 40.
- SHALTOUT, A. A.; CASTILHO, I. N.; WELZ, B.; CARASEK, E.; MARTENS, I. B. G.; MARTENS, A.; COZZOLINO, S. M. Method development and optimization for the determination of selenium in bean and soil samples using hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, Elsevier, v. 85, n. 3, p. 1350 – 1356, 2011. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.06.015>. Citado na página 42.
- SHAMSIPUR, M.; FATTABI, N.; ASSADI, Y.; SADEGHI, M.; SHARAFI, K. Speciation of As(III) and As(V) in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after solid phase extraction combined with dispersive liquid–liquid microextraction based on the solidification of floating organic drop. **Talanta**, Elsevier, v. 130, p. 26 – 32, 2014. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.06.049>. Citado na página 45.
- SHEMIRANI, F.; BAGHDADI, M.; RAMEZANI, M. Preconcentration and determination of ultra trace amounts of arsenic(III) and arsenic(V) in tap water and total arsenic in biological samples by cloud point extraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, Elsevier, v. 65, n. 4, p. 882 – 887, 2005. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2004.08.009>. Citado na página 95.
- SHI, C.; JING, Y.; XIAO, J.; WANG, X.; JIA, Y. Liquid-liquid extraction of lithium using novel phosphonium ionic liquid as an extractant. **Hydrometallurgy**, Elsevier, v. 169, p. 314 – 320, 2017. ISSN 0304-386X. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2017.02.015>. Citado na página 25.
- SIGMA-ALDRICH. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/x114?lang=pt&region=BR>>. Acesso em: 2017-04-07. Citado na página 46.

SILVA, L. A. da. **Avaliação da biodisponibilidade de metais em amostras de sedimentos do Rio Uberabinha (Uberlândia-MG)**. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009. Citado na página 66.

SILVA, L. M. Environmental impacts in the coal mining of Criciuma Region, Santa Catarina State). **International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences & Geomechanics Abstracts**, Elsevier, v. 32, n. 5, p. A246, 1995. ISSN 0148-9062. [http://dx.doi.org/10.1016/0148-9062\(95\)93483-6](http://dx.doi.org/10.1016/0148-9062(95)93483-6). Citado na página 23.

SMEDLEY, P.; KINNIBURGH, D. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. **Applied Geochemistry**, Elsevier, v. 17, n. 5, p. 517 – 568, 2002. ISSN 0883-2927. [http://dx.doi.org/10.1016/S0883-2927\(02\)00018-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0883-2927(02)00018-5). Citado na página 27.

SMICHOWSKI, P.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. Analytical methods for antimony speciation in waters at trace and ultratrace levels. A review. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Springer, v. 360, n. 6, p. 623–629, 1998. ISSN 1432-1130. <http://dx.doi.org/10.1007/s002160050770>. Citado na página 42.

SUBHA, B.; SONG, Y. C.; WOO, J. H. Bioremediation of contaminated coastal sediment: Optimization of slow release biostimulant ball using response surface methodology (RSM) and stabilization of metals from contaminated sediment. **Marine Pollution Bulletin**, Elsevier, v. 114, n. 1, p. 285 – 295, 2017. ISSN 0025-326X. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.09.034>. Citado na página 26.

SUN, J.; QUICKSALL, A. N.; CHILLRUD, S. N.; MAILLOUX, B. J.; BOSTICK, B. C. Arsenic mobilization from sediments in microcosms under sulfate reduction. **Chemosphere**, Elsevier, v. 153, p. 254 – 261, 2016. ISSN 0045-6535. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.117>. Citado na página 24.

SUN, M.; LIU, G.; WU, Q.; LIU, W. Speciation analysis of inorganic arsenic in coal samples by microwave-assisted extraction and high performance liquid chromatography coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Talanta**, Elsevier, v. 106, p. 8 – 13, 2013. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2012.12.012>. Citado na página 32.

TAKASE, I.; PEREIRA, H. B.; LUNA, A. S.; GRINBERG, P.; CAMPOS, R. C. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova**, Scielo, v. 25, n. 6B, p. 1132 – 1144, 2002. ISSN 1678-7064. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000700014>. Citado na página 91.

TANG, A.; DING, G. sheng; YAN, X. P. Cloud point extraction for the determination of As(III) in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, Elsevier, v. 67, n. 5, p. 942 – 946, 2005. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2005.04.016>. Citado na página 95.

TANG, L.; FENG, H.; TANG, J.; ZENG, G.; DENG, Y.; WANG, J.; LIU, Y.; ZHOU, Y. Treatment of arsenic in acid wastewater and river sediment by FeFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanobunches: The effect of environmental conditions and reaction mechanism. **Water Research**, Elsevier, v. 117, p. 175 – 186, 2017. ISSN 0043-1354. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.059>. Citado na página 33.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, Scielo, v. 29, n. 2, p. 338 – 350, 2006. ISSN 1678-7064. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000200026>. Citado na página 48.

- TEIXEIRA, M. C.; TAVARES, E. F.; SACZK, A. A.; OKUMURA, L. L.; CARDOSO, M. G.; MAGRIOTIS, Z. M.; OLIVEIRA, M. F. Cathodic stripping voltammetric determination of arsenic in sugarcane brandy at a modified carbon nanotube paste electrode. **Food Chemistry**, Elsevier, v. 154, p. 38 – 43, 2014. ISSN 0308-8146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.076>. Citado na página 41.
- TRANCHIDA, P. Q. Comprehensive two-dimensional gas chromatography: A perspective on processes of modulation. **Journal of Chromatography A**, Elsevier, 2017. ISSN 0021-9673. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.04.039>. Citado na página 36.
- TSAI, S.-L.; SINGH, S.; CHEN, W. Arsenic metabolism by microbes in nature and the impact on arsenic remediation. **Current Opinion in Biotechnology**, Elsevier, v. 20, n. 6, p. 659 – 667, 2009. ISSN 0958-1669. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2009.09.013>. Citado na página 28.
- TYBURSKA, A.; JANKOWSKI, K.; RODZIK, A. Determination of arsenic and selenium by hydride generation and headspace solid phase microextraction coupled with optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Elsevier, v. 66, n. 7, p. 517 – 521, 2011. ISSN 0584-8547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2011.03.010>. Citado na página 45.
- ULUSOY, H. İ.; AKÇAY, M.; ULUSOY, S.; GÜRKAN, R. Determination of ultra trace arsenic species in water samples by hydride generation atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 703, n. 2, p. 137 – 144, 2011. ISSN 0003-2670. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.026>. Citado 4 vezes nas páginas 47, 72, 93 e 95.
- VÅRDAL, L.; ASKILDSEN, H. M.; GJELSTAD, A.; ØIESTAD, E. L.; EDVARDSEN, H. M. E.; PEDERSEN-BJERGAARD, S. Parallel artificial liquid membrane extraction of new psychoactive substances in plasma and whole blood. **Journal of Chromatography B**, Elsevier, v. 1048, p. 77 – 84, 2017. ISSN 1570-0232. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.02.010>. Citado na página 45.
- VICENTINI, F. C.; FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; JANEGITZ, B. C.; SANTIAGO, A.; PEREIRA-FILHO, E. R.; FATIBELLO-FILHO, O. Factorial design and response surface: voltammetric method optimization for the determination of Ag(I) employing a carbon nanotubes paste electrode. **Química Nova**, Scielo, v. 34, n. 5, p. 825 – 830, 2011. ISSN 1678-7064. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422011000500018>. Citado na página 72.
- WANG, Z. F.; CUI, Z. J. Supercritical fluid extraction and gas chromatography analysis of arsenic species from solid matrices. **Chinese Chemical Letters**, Elsevier, v. 27, n. 2, p. 241 – 246, 2016. ISSN 1001-8417. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cclet.2015.10.001>. Citado na página 35.
- WATANABE, H.; TANAKA, H. A non-ionic surfactant as a new solvent for liquid - liquid extraction of zinc(II) with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol. **Talanta**, Elsevier, v. 25, n. 10, p. 585 – 589, 1978. ISSN 0039-9140. [http://dx.doi.org/10.1016/0039-9140\(78\)80151-9](http://dx.doi.org/10.1016/0039-9140(78)80151-9). Citado na página 46.
- WATANABE, T.; HIRANO, S. Metabolism of arsenic and its toxicological relevance. **Archives of Toxicology**, Springer, v. 87, p. 969 – 979, 2013. ISSN 1432-0738. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0904-5>. Citado na página 29.
- WELNA, M.; BORKOWSKA-BURNECKA, J.; POPKO, M. Ultrasound and microwave-assisted extractions followed by hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry for lead determination in geological samples. **Talanta**, Elsevier, v. 144, p. 953 – 959,

2015. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.07.058>. Citado 2 vezes nas páginas 25 e 59.

WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A. Effect of sample preparation procedure for the determination of As, Sb and Se in fruit juices by HG-ICP-OES. **Food Chemistry**, Elsevier, v. 159, p. 414 – 419, 2014. ISSN 0308-8146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.046>. Citado na página 25.

WELZ, B.; SCHUBERT-JACOBS, M.; SPERLING, M.; STYRIS, D. L.; REDFIELD, D. A. Investigation of reactions and atomization of arsine in a heated quartz tube using atomic absorption and mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, Elsevier, v. 45, n. 11, p. 1235 – 1256, 1990. ISSN 0584-8547. [http://dx.doi.org/10.1016/0584-8547\(90\)80067-S](http://dx.doi.org/10.1016/0584-8547(90)80067-S). Citado na página 90.

WHO. **Environmental health criteria 224:arsenic and arsenic compounds**. 2nd. ed. Genebra: World Health Organization, 2001. 501 p. ISBN 9241572248. Citado 2 vezes nas páginas 28 e 29.

WU, D.; SUN, S. Speciation analysis of As, Sb and Se. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, Elsevier, v. 11, p. 9 – 22, 2016. ISSN 2214-1588. <http://dx.doi.org/10.1016/j.teac.2016.05.001>. Citado 3 vezes nas páginas 24, 25 e 88.

YAMINI, Y.; GHAMBARIAN, M. 3.33 - Environmental applications of cloud-point extraction. In: PAWLISZYN, J. (Ed.). **Comprehensive Sampling and Sample Preparation**. Oxford: Academic Press, 2012. p. 657 – 680. ISBN 978-0-12-381374-9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00108-3>. Citado na página 60.

YANG, G.; MA, L.; XU, D.; LI, J.; HE, T.; LIU, L.; JIA, H.; ZHANG, Y.; CHEN, Y.; CHAI, Z. Levels and speciation of arsenic in the atmosphere in Beijing, China. **Chemosphere**, Elsevier, v. 87, n. 8, p. 845 – 850, 2012. ISSN 0045-6535. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.01.023>. Citado na página 28.

YANG, Y.; LUO, L.; LI, H.-P.; WANG, Q.; YANG, Z. G.; LONG, C. L. Separation and determination of silver nanoparticle in environmental water and the UV-induced photochemical transformations study of AgNPs by cloud point extraction combined ICP-MS. **Talanta**, Elsevier, v. 161, p. 342 – 349, 2016. ISSN 0039-9140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.08.052>. Citado na página 45.

YAVARI, S.; MALAKAHMAD, A.; SAPARI, N. B.; YAVARI, S. Sorption properties optimization of agricultural wastes-derived biochars using response surface methodology. **Process Safety and Environmental Protection**, Elsevier, v. 109, p. 509 – 519, 2017. ISSN 0957-5820. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.05.002>. Citado na página 26.

ZHANG, N.; FU, N.; FANG, Z.; FENG, Y.; KE, L. Simultaneous multi-channel hydride generation atomic fluorescence spectrometry determination of arsenic, bismuth, tellurium and selenium in tea leaves. **Food Chemistry**, Elsevier, v. 124, n. 3, p. 1185 – 1188, 2011. ISSN 0308-8146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.033>. Citado na página 80.

ZHANG, Y.; ZHENG, C.; HOU, X.; XU, K. Online multichannel ultrasonic extraction for high throughput determination of arsenic in soil by sequential injection slurry hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Analytical Methods**, The Royal Society of Chemistry, v. 5, p. 3142–3147, 2013. ISSN 1759-9679. <http://dx.doi.org/10.1039/C3AY40584B>. Citado na página 93.

ZHANG, Z.; CHEN, S.; YU, H.; SUN, M.; LIU, W. Simultaneous determination of arsenic, selenium and mercury by ion exchange-vapor generation-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, Elsevier, v. 513, n. 2, p. 417–423, 2004. ISSN 0003-2670. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2004.03.006>. Citado na página 71.