



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO EM AMOSTRAS
DE ARROZ EMPREGANDO EXTRAÇÃO POR FASE
SÓLIDA *in-situ* E DETERMINAÇÃO POR FI-HG AAS**

BRUNO ELIAS DOS SANTOS COSTA

Uberlândia - MG

2018

MSc. BRUNO ELIAS DOS SANTOS COSTA

**ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO EM AMOSTRAS
DE ARROZ EMPREGANDO EXTRAÇÃO POR FASE
SÓLIDA *in-situ* E DETERMINAÇÃO POR FI-HG AAS**

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito para obtenção do título de Doutor em Química.

Área de concentração: Química Analítica

Orientadora: Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho

Uberlândia - MG

2018

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

C837e
2018 Costa, Bruno Elias dos Santos, 1989-
Especiação química de arsênio em amostras de arroz empregando extração por fase sólida in-situ e determinação por FI-HG AAS [recurso eletrônico] / Bruno Elias dos Santos Costa. - 2018.

Orientadora: Nívia Maria Melo Coelho.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2018.811>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Química. 2. Arsênio - Especiação química. 3. Arroz. 4. Extração (Química). I. Coelho, Nívia Maria Melo (Orient.) II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Maria Salete de Freitas Pinheiro - CRB6/1262



**Ata da defesa de TESE DE DOUTORADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química,
do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE TESE DE DOUTORADO EM QUÍMICA, NÚMERO 87/PPQUI.**

DATA: 30/08/2018

DISCENTE: Bruno Elias dos Santos Costa

MATRÍCULA: 11413QMI001

TÍTULO DO TRABALHO: Estratégias analíticas para especificação não-cromatográfica de arsênio em amostras de arroz empregando sistema SPE-FI-HG AAS.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

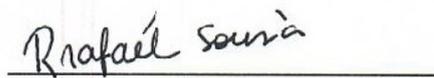
LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Emprego de materiais nano-estruturados como modificadores químicos aplicados na extração e pré-concentração in-situ de metais traço e determinação por ETAAS.

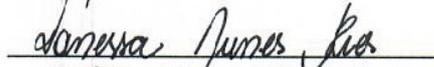
Às quatorze horas do dia trinta de agosto do ano dois mil e dezoito, no(a) Auditório A do Bloco 50 no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Alam Gustavo Trovó, da(o) do Instituto de Química da UFU, Sebastião de Paula Eiras, do Instituto de Química da UFU, Rafael Arromba de Sousa, da Universidade Federal de Juiz de Fora, Vanessa Nunes Alves, da Universidade Federal de Goiás e Nívia Maria Melo Coelho, 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 no Regulamento do Programa PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, 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 A provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será "Especiação química de arsênio em amostras de arroz empregando extração por fase sólida in-situ e determinação por FI-HG AAS."

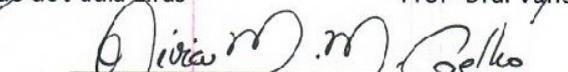
Esta defesa de Tese de Doutorado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 30 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof. Dr. Alam Gustavo Trovó


Prof. Dr. Rafael Arromba de Sousa


Prof. Dr. Sebastião de Paula Eiras


Profª Dra. Vanessa Nunes Alves


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

*“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens,
mas em ter novos olhos”*

Marcel Proust

DEDICO

Aquele que me sustenta com graça e misericórdia e me deu coragem para questionar realidades e propor sempre um universo repleto de novas possibilidades.

Aos meus Pais! Eu vos amo infinitamente!

Aos que praticam a ciência para um bem maior e melhor!

AGRADECIMENTOS

É com imenso prazer que desfruto de mais uma oportunidade de externar minha gratidão:

À Deus pelo fôlego de vida e por me capacitar em sua força soberana; o ato maior que lapida minha essência em cada dia dessa jornada.

Aos meus pais Célio da Costa e Maria Edna por investirem em mim com todo o amor e fé! Por se doarem completamente em prol dos meus sonhos e formação como ser humano. Minha legítima inspiração, braço forte e motivação de coragem para os momentos mais difíceis.

Ao meu irmão Tiago pela lealdade, confiança e sabedoria nas palavras de apoio. Muito orgulho e felicidade em podermos juntos conquistar nossas vitórias!

Aos meus avós Manoel dos Santos e Guiomar de Sousa Costa por todo carinho, dedicação e amor incondicional.

À memória dos meus amados avós Elias da Costa e Maria Cândida, por serem meus exemplos de bravura e fé. Amor eternizado nas lembranças e na certeza de cumprir o legado que deixaram em meu coração.

Aos meus familiares (primos e tios) pela generosidade e por sempre me incentivarem. Sei que posso contar com vocês!

Aos meus queridos amigos, que de perto ou de longe me abraçaram com companheirismo, apoio e descontração!

A Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho, pela orientação, confiança, suporte e contribuição significativa durante minha trajetória na Pós-Graduação.

Aos amigos do Instituto de Química da UFU e colegas do Laboratório de Espectroscopia Aplicada (LEA), dos quais pude conviver durante esses anos: Sarah, Lorena, Carol, Nathália, Diego, Gabriel Terra, Gabriel Ferreira, Henrique, Weida, Aline, em especial a Simone e Thaís por me proporcionarem momentos de grande crescimento em nossa convivência. Aos Profs. Drs. Alex Domingues e Sidnei Gonçalves pela colaboração e troca de conhecimento.

Em especial, ao Prof. Dr. Fábio Amaral (LAETE-UFU) por toda prestatividade, aconselhamento e pela amizade!

Ao técnico Flaysner Magayver (LMIQ-UFU), Sinval (LAFOT-UFU) e a Faculdade de Engenharia Química (FEQUI-UFU) pela ajuda prestada nos ensaios de caracterização.

Aos Profs. Drs. Rafael Arromba (UFJF), Vanessa Alves (UFG-RC), Sebastião Eiras (UFU) e Alam Trovó (UFU), pelas valiosas críticas e sugestões que contribuirão significativamente no aprimoramento deste trabalho.

A CAPES pela bolsa concedida*!

A todos que de alguma forma, direta ou indiretamente colaboraram para que o êxito dessa minha qualificação profissional fosse alcançado! Sintam-se todos abraçados!

“Este trabalho foi realizado com Apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”

RESUMO

Nesta tese é proposto um novo método de especiação química de arsênio em amostras de arroz, por meio da extração em fase sólida baseada em sal de amônio quaternário e *in-situ* (ISQ_{AS}-SPE). Apesar do grande número de publicações sobre especiação de arsênio empregando técnicas cromatográficas, este método visa contribuir para o estado da arte da especiação não-cromatográfica, que ainda é pouco explorada. Espécies de arsênio inorgânico após serem extraídas e pré-concentradas, foram determinadas na forma de As(III) por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos em um sistema de análise por injeção em fluxo com zonas coalescentes por multicomutação (FI-HG AAS). A espécie As(III) complexa seletivamente com agente APDC em pH 1,0 e extraído pelas micropartículas da fase sólida formada. O brometo de tetra-*n*-butilamônio (TBAB) foi empregado como Agente Transferidor de Fase e o ânion ClO₄⁻ como Agente Pareador Iônico, formando o perclorato de tetra-*n*-butilamônio como fase sólida extratora. Ensaios de caracterização revelaram partículas com dimensionamento micrométrico, sem uma fase definida e de alta área superficial. A extração do complexo As(PDC)₃ ocorre por mecanismos de adsorção e interações hidrofóbicas. O procedimento ISQ_{AS}-SPE foi otimizado através de planejamentos fatoriais e metodologia de superfície de resposta empregando Planejamento Fatorial Composto com Ponto Central (CCD). Sob as condições ótimas de extração, as variáveis que influenciam no sistema de determinação FI-HG AAS foram otimizadas de forma univariada, do qual pode-se obter 88% de eficiência na recuperação de As(III). A determinação de arsênio inorgânico total foi possível mediante etapa de pré-redução com cloridrato de hidroxilamina 0,5% (m/v), da qual a concentração da espécie As(V) pode ser determinada por diferença. Estudos de interferência de concomitantes apontaram interferência significativa dos íons metálicos Cd(II) e Mn(II), característicos de interferência em fase líquida, dos quais podem ser minimizados pela adição do agente mascarante EDTA. Não foram observadas interferências significativas das espécies metiladas MMA e DMA. Verificou-se que é possível determinar seletivamente a espécie DMA na ausência de MMA a partir da solução sobrenadante por HG AAS empregando tampão acetato pH 5,0 e 0,4% (m/v) de NaBH₄. O método apresenta potencialidade para determinação de baixas concentrações de arsênio, com fator de pré-concentração 17. Os limites de detecção e quantificação obtidos foram respectivamente de 0,040 e 0,12 µg L⁻¹ para As total; e 0,46 e 1,5 µg L⁻¹ para DMA, com precisão de 5,5% para As(III) 10,0 µg L⁻¹. O método foi aplicado em material de referência certificado IRRM-804 *Rice Flour* obtendo 92% de exatidão. O método é simples e se mostra aplicável no monitoramento de arsênio em amostras de arroz dentro dos valores normatizados pelas legislações vigentes.

Palavras-chave: especiação, arsênio, SPE *in-situ*, sal de amônio quaternário, geração de hidretos, arroz.

ABSTRACT

In this work a new method for chemical speciation of arsenic in rice samples is proposed, by means of solid phase extraction *in situ*-based on quaternary ammonium salt and (ISQ_{AS}-SPE). Among a large number of publications on arsenic speciation using chromatographic techniques, this method aims to contribute to the state of the art of non-chromatographic speciation, which is still little explored. Inorganic arsenic species after extraction and preconcentration were determined as As (III) by atomic absorption spectrometry with hydride generation in a flow injection analysis system with coalescing zones by multicomputing (FI-HG AAS). The As (III) species selectively complexes with APDC agent at pH 1.0 and they are extracted by the microparticles of the formed solid phase. Tetra-n-butylammonium bromide (TBAB) was used as Phase Transfer Agent while the ClO₄⁻ anion was the Ionic Paretic Agent, forming tetra-n-butylammonium perchlorate as the extractive solid phase. Characterization assays revealed particles with micrometric scaling, without a defined morphology and high surface area. The extraction of As(PDC)₃ complex occurs by adsorption mechanisms and hydrophobic interactions. The ISQ_{AS}-SPE procedure was optimized through factorial design and response surface methodology using Central Compound Design (CCD). Under optimal extraction conditions, the variables influencing the FI-HG AAS determination system were optimized in an univariate form, from which 88% of As (III) recovery efficiency can be obtained. The determination of total inorganic arsenic was possible by pre-reduction step with hydroxylamine hydrochloride 0.5% (m /v), of which the concentration of the As (V) species can be determined by difference. Concomitant interference studies have indicated significant interference of Cd(II) and Mn(II) metal ions, characteristic of interference in liquid phase, of which they can be minimized by the addition of EDTA as masking agent. On the other hand no significant interferences were observed in the methylated species MMA and DMA. It has been found that it is possible to selectively determine the DMA species in the absence of MMA from the HG AAS supernatant solution using acetate buffer pH 5.0 and 0.4% (m /v) NaBH₄. The method has potential for the determination of low concentrations of arsenic, with a preconcentration factor of 17. The limits of detection and quantification obtained were respectively 0.040 and 0.12 µg L⁻¹ for total As; and 0.46 and 1.5 µg L⁻¹ for DMA, with an accuracy of 5.5% for As(III) 10.0 µg L⁻¹. The method was applied in IRRM-804 Rice Flour certified reference material obtaining 92% accuracy. The method is simple and shown to be applicable to the monitoring of arsenic in rice samples within the values established by current legislation.

Keywords: speciation, arsenic, *in-situ* SPE, quaternary ammonium salt, hydride generation, rice.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Associação Oficial de Química Analítica
APDC	Pirrolidina ditiocarbamato de amônio
API	Agente Pareador Iônico
AsB	Arsenobetaína
AsC	Arsenolina
ATF	Agente Transferidor de Fase
BDES	<i>Eletrostacking</i> Bidirecional
BET	Brunauer-Emmet-Teller
CAQ	Cátion de Amônio Quaternário
CAS	Chemical Abstracts Service
CCD	Planejamento Fatorial Composto com Ponto Central
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CPE	Extração por Ponto Nuvem
CRM	Material de Referência Certificado
CTF	Catálise de Transferência de Fase
CV	Coefficiente de Variação
CV AAS	Espectrometria de Absorção Atômica por Vapor Frio
CYS	aminoácido Cisteína
CZE	Eletroforese Capilar de Zona
DDTP	Dietilditiofosfato de amônio
DLLME	Microextração Líquido-Líquido Dispersiva
DMA	Ácido dimetilarsínico
EC	Eficiência de Concentração
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
EDXRFS	Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X com Energia Dispersiva
EE	Eficiência de Extração
EPA-US	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
ETAAS	Espectrometria de Absorção Atômica Eletrotérmica
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica por Chama
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
FE	Fator de Enriquecimento
FI	Fator de Interferência
FIA	Análise por Injeção em Fluxo
FPC	Fator de Pré-concentração
FT-IR	Infravermelho com Transformada de Fourier

GC	Cromatografia à Gas
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite
GLU	aminoácido Glutamina
GLY	aminoácido Glicina
GR	Geração de Resíduos
GSH	Glutathiona
HG AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos
HG AFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Hidretos
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IARC	Agência Internacional para a Pesquisa do Câncer
IC	Índice de Consumo
ICP MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISQ_{AS}-SPE	Extração em Fase Sólida baseada em Sal de Amônio Quaternário e <i>in-situ</i>
ISS-SPE	Extração em Fase Sólida baseada em Surfactante e <i>in-situ</i>
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
JECFA	Joint Expert Committee on Food Additives
LD	Limite de Detecção
LD₅₀	Dosagem Letal Mediana
LLE	Extração Líquido-Líquido
LQ	Limite de Quantificação
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MMA	Ácido monometilarsônico
MSMA	Metano arsenato monossódico
OMS (WHO)	Organização Mundial da Saúde
P	Fator de Transferência de Fase
PAN	1-(2-piridilazo)-2-naftol
PC	Fitoquelatina
RSD	Desvio Padrão Relativo
SGL	Separador Gás-Líquido
SPE	Extração em Fase Sólida
SPME	Microextração em Fase Sólida
TBAB	Brometo de tetra- <i>n</i> -butilamônio
TMAH	Hidróxido de tetrametilamônio
TMAO	Óxido de tetrametilamônio
UV-Vis	Ultra-violeta e visível
VGA	Acessório de Geração de Vapor
XANES	Estrutura de Absorção de Raios-X Próxima a Borda
XAS	Espectroscopia de Absorção de Raios-X

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Publicações reportadas pela <i>Web of Science</i> sobre alimentos contaminados com arsênio.....	23
Figura 2 -	(A) Sistema de extração por fase sólida tipo <i>manifold</i> , com cartuchos submetidos à vácuo. (B) Microextração em fase sólida com fibra sorvente (<i>headspace</i>) e injeção no septo de um cromatógrafo à gás.....	25
Figura 3 -	Morfologia e composição do grão de arroz.....	34
Figura 4 -	Esquema representativo da absorção de arsênio e metabolismo por células de raízes de (a) plantas não hiperacumuladoras e (b) plantas acumuladoras. A espessura da linha indica a capacidade de efluxo. A linha pontilhada indica o efluxo mais lento. As interrogações indicam lacunas conhecidas. GSH : glutationa; GSSG : glutationa oxidada; PC : fitoquelatina.....	38
Figura 5 -	(A) Espectro de massas obtidos para amostras de raízes de arroz do cultivo de Itálica Carolina, do qual se observa a fragmentação das moléculas de fitoquelatinas e sua relação na complexação com arsênio (BATISTA, 2012). (B) Estrutura da molécula de glutationa (GSH).....	39
Figura 6 -	Principais surfactantes catiônicos empregados no método ISS-SPE. (A) brometo de <i>n</i> -octiltrimetilamônio (OTAB); (B) brometo de <i>n</i> -cetiltrimetilamônio (CTAB); (C) cloreto de <i>n</i> -cetilpiridínio (CPC); (D) cloreto de <i>n</i> -tetradecildimetilbenzilamônio (TBAC) e (E) brometo de <i>n</i> -dodeciltrimetilamônio (DTAB).....	50
Figura 7 -	Figura 7. Estrutura molecular do sal brometo de tetra- <i>n</i> -butilamônio (TBAB), empregado como agente transferidor de fase neste trabalho.....	51
Figura 8 -	Planejamentos fatoriais compostos com ponto central: (A) J=2 e $\alpha = 1,414 (\approx \sqrt{2})$, (B) J=3 e $\alpha = 1,682$. Os diferentes símbolos significam: • planejamento fatorial, ■ pontos axiais e ○ ponto central.....	57
Figura 9 -	Esquema representativo das etapas envolvidas no processo de solubilização da amostra.....	62
Figura 10 -	Fluxograma da proposta de separação não-cromatográficas das espécies de arsênio.....	63

- Figura 11** - Esquema representativo do sistema FI-HG AAS. **BP**: Bomba Peristáltica; **V1, V2 e V3**: Válvulas solenoides de 3 vias; **X**: Ponto de Confluência; **BR**: Bobina Reacional (25 cm); **SGL**: Separador gás-líquido; **AAS**: Espectrômetro de Absorção Atômica; **CQ**: Cela de quartzo posicionada sobre o queimador; **Rec**: Recirculação dos reagentes. **D**: Descarte..... 64
- Figura 12** - Esquema das partes do separador gás-líquido empregado no sistema FI-HG AAS..... 65
- Figura 13** - Representação real do sistema FI-HG AAS para determinação de arsênio, com expansão dos aparatos em destaque (vermelho). Fotografias: O Autor..... 65
- Figura 14** - Esquema simplificado representativo do sistema FI-HG AAS no modo de injeção **(A)** consecutivo e **(B)** simultâneo. _____ Fluxo ativado, ----- Fluxo desativado, **t**: tempo de acionamento das válvulas..... 66
- Figura 15** - Ilustração das etapas do procedimento ISQ_{AS}-SPE. **(A)** Solução padrão de As ou amostra contendo complexante APDC e agente transferidor TBAB, **(B)** Adição da solução do agente pareador iônico ClO₄⁻, **(C)** Aglomeração das partículas do microssorvente para a extração do complexo As(PDC)₃ após a agitação manual, **(D)** Após a centrifugação e adição da solução lixiviadora HCl, **(E)** Solução resultante contendo As(III) pré-concentrado e pronto para ser levado ao sistema FI-HG AAS..... 67
- Figura 16** - Esquema representativo do procedimento de calibração por adição de padrão..... 71
- Figura 17** - Espectros de absorção no infravermelho médio com Transformada de Fourier (FT-IR) dos componentes moleculares envolvidos no procedimento ISQ_{AS}-SPE..... 76
- Figura 18** - Imagens de Micrografia Eletrônica de Varredura (MEV) das micro-partículas da fase sólida adsorvente, obtidas em magnificações de 500X, 1.000X, 5.000X, 10.000X, 50.000X e 80.000X..... 79
- Figura 19** - Espectros de Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) das regiões selecionadas das micro-partículas da fase sólida adsorvente isolada (ISQ_{AS}-SPE em branco)..... 80

Figura 20 - Espectros de Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) das regiões selecionadas das micro-partículas da fase sólida contendo o complexo $\text{As}(\text{PDC})_3$ adsorvido.....	80
Figura 21 - Mapeamento de distribuição elementar dos átomos constituintes do sistema sal-adsorvato $\text{TBA}(\text{ClO}_4).\text{As}(\text{PDC})_3$	81
Figura 22 - Classificação das isotermas de adsorção/desorção nos tipos I a VI, segundo IUPAC (1985).....	82
Figura 23 - Isotherma de adsorção e desorção de nitrogênio gasoso a 77K para a fase sólida extratora perclorato de tetra- <i>n</i> -butilamônio.....	83
Figura 24 - Curvas de calibração obtidas para o estudo dos modo de injeção consecutivo e simultâneo ($n=3$). Condições preliminares: $[\text{HCl}]$ $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, NaBH_4 0,5% (m/v), vazão $4,0 \text{ mL min}^{-1}$	86
Figura 25 - Representação estrutural simplificada da formação do complexo $\text{As}(\text{PDC})_3$	87
Figura 26 - Efeito do pH sobre a complexação de As (III) com APDC, submetido ao método $\text{ISQ}_{\text{As}}\text{-SPE}$. Condições Preliminares: $\text{C}_{\text{As(III)}}$ $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, APDC 0,0077% (m/v), $[\text{TBAB}]$ $0,015 \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{ClO}_4^-]$ $0,035 \text{ mol L}^{-1}$; Sistema FI-HG AAS: $[\text{HCl}]$ $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, NaBH_4 0,5% (m/v), vazão $4,0 \text{ mL min}^{-1}$	88
Figura 27 - Gráfico de distribuição das espécies do ligante pirrolidina ditiocarbamato (PDC) em função do pH, ilustrando a estrutura das espécies protonada (linha azul) e desprotonada (linha vermelha). Extraído de https://chemicalize.com/#/calculation . Acesso em 12/04/2017.....	89
Figura 28 - Gráfico de distribuição das espécies de arsenito $[\text{As(III)}]$ em função do pH, ilustrando a estrutura das espécies protonada (linha azul), parcialmente desprotonada (linha vermelha) e desprotonada (linha amarela). Extraído de https://chemicalize.com/#/calculation . Acesso em 12/04/2017.....	89
Figura 29 - Proposta de mecanismo da formação do complexo $\text{As}(\text{PDC})_3$ em meio ácido.....	90
Figura 30 - Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados obtidos pelo planejamento fatorial fracionário $2^{5-1}(\text{V})$	92
Figura 31 - Estudo complementar de variação da concentração do agente pareador iônico ClO_4^- . Condição preliminar do sistema FI-HG AAS: $[\text{HCl}]$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, NaBH_4 0,5% (m/v), vazão $4,0 \text{ mL min}^{-1}$	93

Figura 32 -	Estudo complementar de variação do tempo de extração. Condição preliminar do sistema FI-HG AAS: [HCl] 0,1 mol L ⁻¹ , NaBH ₄ 0,5% (m/v), vazão 4,0 mL min ⁻¹	95
Figura 33 -	Superfícies de resposta dos efeitos de interação significativos referente ao modelo obtido pelo planejamento fatorial.....	96
Figura 34 -	Diagrama dos efeitos marginais de cada interação avaliada no planejamento fatorial.....	97
Figura 35 -	Superfícies de resposta obtidos pelo planejamento CCD. (A) APDC x [TBAB], mantendo tempo constante; (B) APDC x tempo, mantendo [TBAB] constante; (C) [TBAB] x tempo, mantendo [APDC] constante.....	99
Figura 36 -	Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados dos termos obtidos na modelagem por planejamento CCD. (L) corresponde aos termos lineares e (Q) corresponde aos termos quadráticos.....	100
Figura 37 -	Superfícies de resposta obtidos pelo segundo planejamento CCD. (A) APDC x [TBAB], mantendo tempo constante; (B) APDC x tempo, mantendo [TBAB] constante; (C) [TBAB] x tempo, mantendo [APDC] constante.....	102
Figura 38 -	Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados dos termos obtidos na segunda modelagem por planejamento CCD. (L) corresponde aos termos lineares e (Q) corresponde aos termos quadráticos.....	103
Figura 39 -	Estudo de otimização da concentração do redutor NaBH ₄ e carreador na determinação de As(III) extraído no sistema FI-HG AAS.....	106
Figura 40 -	Estudo de otimização das vazões da amostra e do redutor NaBH ₄ 1,0% (m/v), empregando água como carreador e bobina reacional de 25 cm.....	108
Figura 41 -	Estudo da otimização da vazão do carreador [NaBH ₄ 1,0%(m/v), vazões da amostra e NaBH ₄ de 2,5 mL min ⁻¹ ; com bobina reacional de 25 cm	109
Figura 42 -	Estudo de otimização da vazão de drenagem [NaBH ₄ 1,0%(m/v); vazões da amostra, NaBH ₄ e água de 2,5 mL min ⁻¹ ; com bobina reacional de 25 cm]	110

Figura 43 -	Estudo de otimização dos volumes de amostra, NaBH ₄ e água injetados [NaBH ₄ 1,0%(m/v); vazões da amostra, NaBH ₄ e água de 2,5 mL min ⁻¹ ; com bobina reacional de 25 cm]	112
Figura 44 -	Estudo de otimização do comprimento da bobina reacional [NaBH ₄ 1,0%(m/v); vazões da amostra, NaBH ₄ e água de 2,5 mL min ⁻¹ ; com volume injetado de 208,3 µL].....	113
Figura 45 -	Estudo do efeito da radiação ultrassônica em duas diferentes composições do meio lixiviador.....	115
Figura 46 -	Curvas de calibração para As(III) e As(V) por adição de padrão sobre as alíquotas da solução da amostra pré-concentrada.....	117
Figura 47 -	Estudo dos pré-redutores representados conjuntamente para determinação de arsênio total.....	120
Figura 48 -	Representação individual dos resultados de cada pré-redutor.....	120
Figura 49 -	Curvas de calibração obtidas para As(III) e As(V) nas condições propostas do método ISQ _{AS} -SPE frente a ação redutora de cloridrato de hidroxilamina 0,5%(m/v) e em comparação com o sistema de fluxo contínuo VGA-77.....	122
Figura 50 -	Gráfico de Pareto dos efeitos principais padronizados de cada interferente isolado, obtidos pelo planejamento fatorial fracionário 2 ⁷⁻³ (IV).....	125
Figura 51 -	Gráfico de Pareto dos efeitos principais juntamente com os efeitos de interação padronizados dos interferentes, obtidos pelo planejamento fatorial fracionário 2 ⁷⁻³ (IV).....	125
Figura 52 -	Curvas analíticas de calibração para as espécies MMA e DMA por HG AAS. Condições preliminares: NaBH ₄ 0,5% (m/v) e HCl 1,0 mol L ⁻¹	128
Figura 53 -	Gráfico de distribuição das espécies do ácido monometil arsênico (MMA) em função do pH, ilustrando a estrutura das espécies protonada (linha azul), parcialmente desprotonada (linha vermelha) e desprotonada (linha amarela). Extraído de https://chemicalize.com/#/calculation . Acesso em 12/04/2017.....	129
Figura 54 -	Gráfico de distribuição das espécies do ácido dimetil arsênico (DMA) em função do pH, ilustrando a estrutura das espécies protonada (linha azul) e desprotonada (linha vermelha). Extraído de https://chemicalize.com/#/calculation . Acesso em 12/04/2017.	129

Figura 55 -	Curvas analíticas de calibração para as espécies MMA e DMA por HG AAS em meio de tampão acetato pH 5,0 e NaBH ₄ 0,5% (m/v).....	130
Figura 56 -	Estudo da variação da concentração de NaBH ₄ sobre a determinação das espécies MMA e DMA por HG AAS em meio tamponado a pH 5,0.....	131
Figura 57 -	Estudo de preservação das espécies de As sob influência do reagente Universol® nas condições otimizadas do método ISQ _{AS} -SPE-FI HGAAS.....	132
Figura 58 -	Curvas de calibração para As(III) com o procedimento pré-concentração pelo método proposto e sem o procedimento de pré-concentração.....	133
Figura 59 -	Sinais transientes obtidos para a injeção completa de uma amostra simulada por uma solução padrão de As(III) 10,0 µg L ⁻¹ após procedimento ISQ _{AS} -SPE durante o percurso completo no sistema FI-HG AAS. _____ sinal analítico, _____ sinal de fundo (<i>background</i>).....	135

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Alguns compostos de arsênio associados a impactos ambientais, segundo (GONÇALVES, 2011).....	30
Tabela 2 -	Teor de minerais encontrados na composição química em arroz integral e em arroz branco polido.....	35
Tabela 3 -	Limite máximo de tolerância para arsênio em alimentos.....	36
Tabela 4 -	Alguns métodos cromatográficos para especiação de arsênio em arroz empregando HPLC-ICP-MS.....	44
Tabela 5 -	Alguns métodos não-cromatográficos para especiação de arsênio em arroz e em outras amostras de interesse ambiental e clínico.....	45
Tabela 6 -	Influência dos grupos alquila de cátion de amônio quaternário na constante de partição do respectivo hidróxido no sistema benzeno/água (STARKS, 1987).....	52
Tabela 7 -	Alguns trabalhos envolvendo ISS-SPE para pré-concentração na determinação de íons metálicos em amostras de água e alimentos.....	54
Tabela 8 -	Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para determinação de arsênio.....	60
Tabela 9 -	Variáveis e os respectivos níveis estudados no planejamento fatorial 2^{5-1} (V) para otimização do método ISQ _{AS} -SPE.....	68
Tabela 10 -	Variáveis e os respectivos níveis estudados na modelagem do primeiro CCD.....	69
Tabela 11 -	Variáveis e os respectivos níveis estudados na modelagem do segundo CCD.....	69
Tabela 12 -	Níveis de concentração associados aos interferentes para o planejamento fatorial fracionário 2^{7-3} (IV).....	72
Tabela 13 -	Classificação dos poros de acordo com o diâmetro, segundo IUPAC (GREGG e SING, 1982).....	83
Tabela 14 -	Parâmetros morfológicos obtidos pela análise BET da fase sólida extratora.....	83
Tabela 15 -	Comparação dos parâmetros BET de outros materiais adsorventes aplicados em métodos de remoção ou extração por fase sólida.....	84

Tabela 16 -	Parâmetros de calibração obtidos para os modos de injeção estudados.....	86
Tabela 17 -	Matriz do planejamento fatorial fracionário $2^{5-1}(V)$ para triagem da extração de $As(PDC)_3$ por ISQ_{AS-SPE}	91
Tabela 18 -	Análise de Variância referente ao modelo obtido pelo planejamento fatorial.....	96
Tabela 19 -	Matriz do Planejamento CCD para a otimização das condições experimentais de extração de $As(III)$ por ISQ_{AS-SPE}	98
Tabela 20 -	Análise de Variância para o modelo obtido do planejamento CCD.....	100
Tabela 21 -	Matriz do Segundo Planejamento CCD para a otimização das condições experimentais de extração de $As(III)$ por ISQ_{AS-SPE}	101
Tabela 22 -	Análise de Variância para o modelo obtido no segundo planejamento CCD.....	104
Tabela 23 -	Condições otimizadas dos parâmetros associados ao sistema FI-HG AAS.....	114
Tabela 24 -	Parâmetros da calibração por adição de padrão obtidos para as espécies de arsênio estudadas.....	118
Tabela 25 -	Parâmetros de calibração para as espécies de As submetidas ao procedimento ISQ_{AS-SPE} frente as condições reportadas.....	123
Tabela 26 -	Matriz do planejamento fatorial fracionário 2^{7-3} (IV) para o estudo da interferência de concomitantes.....	124
Tabela 27 -	Parâmetros de calibração obtidos para as espécies MMA e DMA nas condições iniciais.....	128
Tabela 28 -	Parâmetros de calibração para as espécies MMA e DMA em meio tamponado a pH 5,0.....	130
Tabela 29 -	Parâmetros de calibração obtidos para as calibrações com e sem pré-concentração.....	133
Tabela 30 -	Avaliação da exatidão do método proposto, empregando material de referência certificado de farinha de arroz.....	134
Tabela 31 -	Figuras de mérito e parâmetros de eficiência obtidos para o método proposto.....	134
Tabela 32 -	Comparação das características analíticas entre os métodos de determinação de arsênio e o método proposto.....	137

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	22
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	28
2.1. Arsênio.....	28
2.2. Arroz.....	33
2.3. Especificação Química e o Preparo de Amostras.....	40
2.4. Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos.....	47
2.5. Extração em Fase Sólida in-situ baseada em Surfactante (ISS-SPE).....	49
2.6. Planejamento Experimental Multivariado.....	55
3. OBJETIVOS.....	58
3.1. Objetivo Geral.....	58
3.2. Objetivos Específicos.....	58
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	59
4.1. Reagentes e Preparo de Soluções.....	59
4.2. Instrumentação.....	60
4.2.1. Equipamentos de procedimento analítico.....	60
4.2.2. Equipamentos para Caracterização.....	60
4.2.2.1. Espectroscopia na Região do Infravermelho (FT-IR).....	61
4.2.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X com Energia Dispersiva (MEV-EDXRFS).....	61
4.2.2.3. Área Superficial Específica (BET).....	61
4.3. Preparo da Amostra.....	61
4.4. Esquema de separação não-cromatográfica das espécies de arsênio.....	63
4.5. Metodologia Analítica.....	64
4.5.1. Construção do sistema FI-HG AAS.....	65
4.5.2. Estudo do modo de injeção.....	66
4.5.3. Procedimento ISQ _{AS} -SPE.....	67
4.5.4. Otimização do método ISQ _{AS} -SPE FI-HG AAS.....	68
4.5.5. Composição e solubilização do meio lixiviador.....	49
4.5.6. Estudo da eficiência de extração do método.....	49
4.5.7. Determinação de Arsênio total.....	71
4.5.8. Estudo dos interferentes.....	71
4.5.9. Figuras de mérito e Aplicações analíticas.....	72
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	75
5.1. PARTE I: Caracterização físico-química da Fase Sólida Extratora.....	76

5.1.1. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho (FT-IR).....	76
5.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (MEV-EDXRFS).....	78
5.1.3. Área Superficial Específica (S_{BET}).....	82
5.2. PARTE II: Desenvolvimento da Metodologia Analítica.....	86
5.2.1. Estudo preliminar do modo de injeção.....	86
5.2.2. Otimização do método ISQ _{AS} -SPE na extração e pré-concentração de As(III).....	87
5.2.2.1. Estudo do efeito do pH.....	87
5.2.2.2. Otimização do método de extração.....	91
5.2.3. Otimização do sistema FI-HG AAS.....	105
5.2.3.1. Estudo das concentrações do redutor NaBH ₄ e carreador (acidez do meio).....	105
5.2.3.2. Estudo da vazão da amostra e vazão do redutor NaBH ₄	108
5.2.3.3. Estudo da vazão do carreador.....	109
5.2.3.4. Estudo da vazão de drenagem.....	110
5.2.3.5. Efeito da vazão do gás de arraste.....	111
5.2.3.6. Estudo do volume injetado.....	112
5.2.3.7. Estudo do comprimento da bobina reacional.....	113
5.2.4. Estudo da composição do meio lixiviador e efeito da radiação ultrassônica.....	115
5.2.5. Eficiência da recuperação e enriquecimento da extração.....	117
5.2.6. Estudo dos pré-redutores.....	120
5.2.7. Estudo da interferência de concomitantes.....	123
5.3. PARTE III: Estudo Complementar envolvendo as espécies metiladas de arsênio e Aplicação do Método.....	127
5.3.1. Determinação seletiva das espécies MMA e DMA.....	127
5.3.2. Aplicação do Método.....	132
5.3.2.1. Estudo de Interconversão das espécies de arsênio.....	132
5.3.2.2. Figuras de Mérito.....	132
6. CONCLUSÃO.....	138
7. PRETENSÕES FUTURAS.....	139
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	140
APÊNDICE: Súmula Curricular.....	151

ANEXO A: Diagrama de distribuição dos resíduos e gráfico de probabilidade normal obtidos da modelagem referente ao primeiro Planejamento Composto Central.....	153
ANEXO B: Diagrama de distribuição dos resíduos e gráfico de probabilidade normal obtidos da modelagem referente ao segundo Planejamento Composto Central.....	154
ANEXO C: Certificado do Material de Referência IRR-804 Rice Flour.....	155

1. INTRODUÇÃO

A incessante busca pelo desenvolvimento de metodologias aplicadas em amostras de interesse ambiental, clínico e alimentício tem evoluído constantemente para o diagnóstico preciso dos níveis de impacto, muitas vezes provocados por contaminação. Diante dessa problemática, a Química Analítica tem oferecido contribuição relevante, no surgimento de novas propostas para certificação e controle de qualidade de forma sustentável. No intuito de que essa contribuição possa abraçar a comunidade, suprimindo as suas necessidades e promovendo a qualidade de vida, esforços são concentrados no desenvolvimento de pesquisas voltadas para a determinação de macro e micronutrientes de forma eficiente, barata e acessível.

No que se diz respeito a investigação de contaminantes em um contexto mais abrangente, pesquisas de interesse químico com abordagens qualitativas e quantitativas, que permitem a articulação com tecnologias provindas da medicina, engenharias dentre outras áreas, tem recebido cada vez mais atenção especial. Um dos principais objetivos dessa investigação, trata-se da elucidação dos mecanismos associados as vias de incorporação de tais contaminantes para reconhecimento das suas funcionalidades, bem como a toxicidade e remediação.

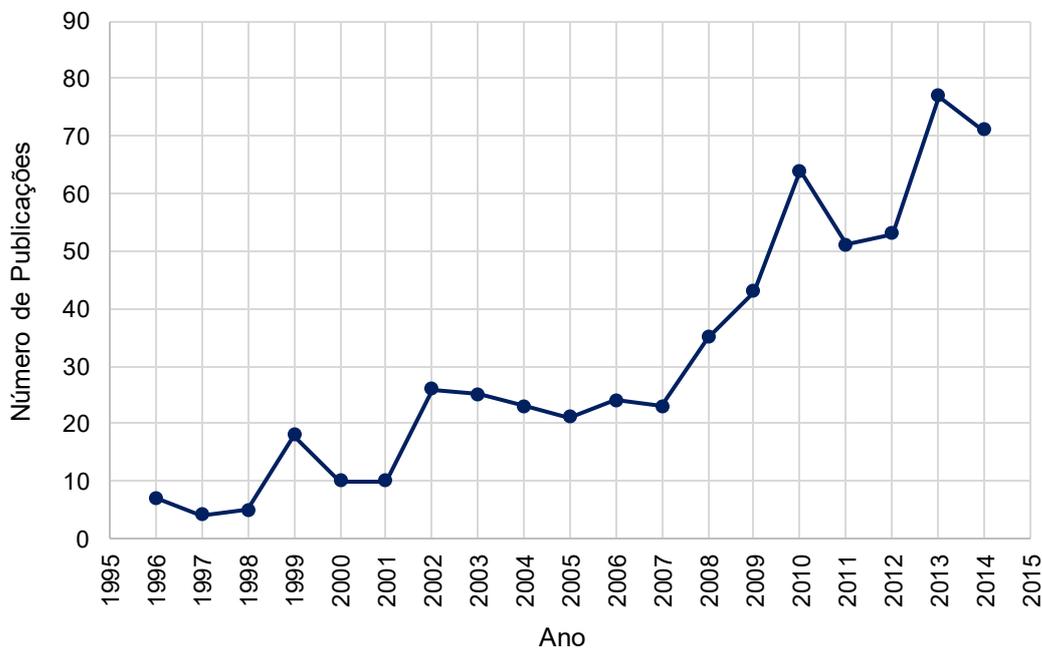
Uma das principais formas de incorporação de contaminantes no sistema fisiológico ocorre através do consumo de alimentos submetidos a condições insalubres, desde o cultivo até o preparo e armazenamento. Quando o contaminante é de natureza química, é imprescindível que informações associadas a sua espécie sejam levadas em consideração no momento de se concluir um diagnóstico.

Um exemplo de contaminante químico que tem sido alvo recorrente de investigação tanto em amostras ambientais como em alimentos é o arsênio. A Figura 1 traz um levantamento realizado por Coelho *et al.*, sobre o número de publicações registrados por ano pela *Web of Science* sobre alimentos contaminados com arsênio (COELHO, PESSOA, *et al.*, 2016). Este elemento apresenta reconhecidas propriedades toxicológicas que são altamente dependentes da sua forma química, mesmo presente em concentrações extremamente baixas. O teor de arsênio, bem como de suas espécies (inorgânicas e orgânicas), é um importante parâmetro para avaliação da mobilidade e biodisponibilidade desse elemento no meio (SMITH, JUHASZ e NAIDU, 2008).

As espécies inorgânicas de arsênio por serem mais tóxicas, são consideradas com risco de potencial carcinogênico e bioacumulativas, enquanto que as espécies orgânicas, por apresentarem menor grau de toxicidade são mais facilmente excretadas pelo organismo (CHATTERJEE, DAS, *et al.*, 1995). Para tanto, torna-se cada vez mais necessário o

investimento em pesquisas dedicadas a exploração das diferentes formas químicas de um determinado elemento ou substância, como é o caso da análise de especiação.

Figura 1. Publicações reportadas pela *Web of Science* sobre alimentos contaminados com arsênio.



Segundo a IUPAC, a especiação química é definida como procedimento analítico que permite a identificação e/ou a quantificação de uma ou mais espécies químicas (IUPAC, 2000). Tal procedimento envolve a composição do analito em um sistema nas suas formas específicas, seja com relação ao estado de oxidação, composição isotópica, estrutura molecular ou complexada. Os principais elementos de interesse em análise de especiação química são, nessa ordem: As, Se, Sb, Cr, Hg, Sn, Fe, Te, Pb e Al (GONZALVEZ, CERVERA, *et al.*, 2009).

Os estudos de especiação química geralmente compreendem a determinação de espécies em concentrações extremamente baixas, exigindo todo o rigor necessário para manter a integridade dos analitos, desde a amostragem até a etapa de validação dos resultados. A composição da sequência analítica voltada para determinação de elementos a níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} em amostras complexas, tem sido um dos grandes desafios da pesquisa científica química.

O estado de agregação natural da maioria das amostras, requer etapas de pré-tratamento que são cruciais, principalmente se tratando da determinação de elementos voláteis como o arsênio. Os procedimentos gerais para o preparo de amostras, requerem condições drásticas e digestões exaustivas, que podem comprometer na repetibilidade dos resultados por mais consolidada que seja a metodologia.

Para que se obtenha um bom desempenho analítico, a escolha da técnica deve ser compatível com as características da amostra e do procedimento adotado para o seu devido tratamento. As principais técnicas de determinação que podem ser satisfatoriamente empregadas incluem a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), cromatografia gasosa (GC), espectrometria de massas (MS), espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES), espectrometria de absorção atômica eletrotérmica (ETAAS) e a espectrometria de absorção ou fluorescência atômica com geração de hidretos (HG AAS / HG AFS). As técnicas eletroanalíticas, tais como a polagrafia, evoluindo para a voltametria de redissolução, amperometria, condutometria (C⁴D) e eletroforese capilar (CZE), também tem ganhado espaço para estudos de especificação química (ELTON e JR., 1978; NGUYEN, KUBÁN, *et al.*, 2007; CARVALHO, NASCIMENTO, *et al.*, 2004, (ROBLES, VETTORELO, *et al.*, 2017)).

Para tais procedimentos, devem ser propostas formulações que sejam capazes de reduzir ao máximo as interferências provindas da matriz com a sensibilidade requerida para a detecção. Para tanto, várias técnicas de extração seletiva e pré-concentração visam suprir essas limitações. Tais alternativas se tornam aliados poderosos em procedimentos de separação, sem a necessidade de se recorrer as técnicas cromatográficas, que muitas vezes são dispendiosas e não sustentáveis.

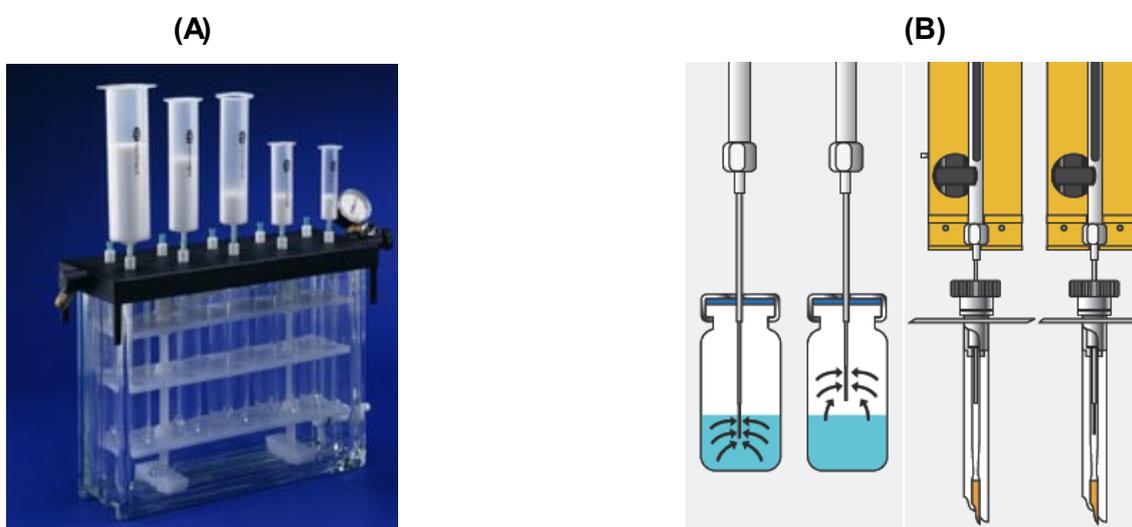
Alguns exemplos podem ser citados na aplicação de métodos alternativos para separação não-cromatográfica visando especificação de arsênio e outros elementos: extração em fase sólida suportados em diversos materiais, tais como sílica funcionalizada com trocador aniônico (RASMUSSEN, YITING e SLOTH, 2013), polímeros ionicamente impressos (WU, WANG, *et al.*, 2007), nano-tubos de carbono (BARBOSA, SEGATELLI, *et al.*, 2007) e adsorventes naturais de origem vegetal (ALVES, NERI, *et al.*, 2017). Além disso, pode-se contar com o desenvolvimento de diversos métodos que vem se aprimorando continuamente nesse objetivo, dos quais podem ser citados a co-precipitação (NIELSEN, SLOTH e HANSEN, 1996), redução sequencial (XIE, JOHNSON, *et al.*, 2007), biosorção seletiva por micro-organismos (KOH, KWON e PAK, 2005), *electrostacking* bidirecional (COELHO, COELHO, *et al.*, 2007), extração por ponto nuvem (COSTA, COELHO e COELHO, 2015), microextração líquido-líquido dispersiva (ZOUNR, TUZEN e KHUHAWAR, 2017), dentre outros.

A extração em fase sólida (SPE) tem recebido destaque por apresentar várias vantagens como simplicidade de execução, baixo custo, consumo reduzido de solventes e ausência de emulsão, principalmente quando comparados com procedimentos de extração líquido-líquido (CAMEL, 2003; MAYER e FRITZ, 1997).

Várias técnicas SPE são comercializadas por empresas do ramo químico e farmacêutico, visando purificação da amostra com máxima eliminação de interferentes. O procedimento é convencionalmente realizado em cartuchos acoplados a multicanais

operando a baixa pressão (Figura 2A), dos quais foram evoluindo para o desenvolvimento de métodos miniaturizados, como por exemplo a micro-extração em fase sólida por *headspace* (SPME), bastante empregada para a extração de analitos voláteis e detectados principalmente por cromatografia à gás (JOHNS, DILLIS e MORGAN, 2005), conforme ilustrado na Figura 2B. Além dessas vantagens, a SPE torna-se ainda mais atrativa por ser facilmente adaptada em processos automatizados, como os sistemas de análise por injeção de fluxo (FIA) e análise por injeção sequencial (SIA), permitindo a pré-concentração de analitos orgânicos e inorgânicos com altos fatores de enriquecimento.

Figura 2. (A) Sistema de extração por fase sólida tipo *manifold*, com cartuchos submetidos à vácuo. (B) Microextração em fase sólida com fibra sorvente (*headspace*) e injeção no septo de um cromatógrafo à gás.



Devido à grande versatilidade e viabilidade da SPE, existe uma busca crescente por novos materiais sintéticos, eficazes e econômicos para serem utilizados como fases extratoras em sistemas de pré-concentração e especiação. As características desejadas para tais fases sólidas são: possuir uma matriz porosa insolúvel em água, alta área superficial, boa estabilidade química e grupos funcionais ativos para interação com o analito.

Recentemente Yousefi e Shemirane desenvolveram um novo método de extração em fase sólida baseado na formação *in-situ* de partículas de surfactante derivados de sais de amônio quaternário. Esse método foi denominado como Extração em Fase Sólida baseada em surfactante e *in-situ* (ISS-SPE) (YOUSEF e SHEMIRANI, 2011).

Os surfactantes empregados no método ISS-SPE são do tipo catiônico, sendo os mais usuais o brometo de *n*-dodeciltrimetilamônio (DTAB) e o brometo de *n*-cetiltrimetilamônio (CTAB). O mecanismo de adsorção é similar aos métodos SPE que empregam sílica do tipo C-18 como fase sólida, em que a cadeia carbônica do surfactante particulado interage efetivamente com analitos hidrofóbicos. Íons metálicos também são possíveis de serem

extraídos por ISS-SPE, mediante complexação com um agente quelante, no intuito de formar um complexo de baixa polaridade. Alguns estudos ainda mais recentes, propõe a extração de íons metálicos por ISS-SPE sem a necessidade de complexação, cujo mecanismo está associado com interações eletrostáticas por pareamento iônico e propriedades físico-químicas de solubilidade do par formado.

O procedimento ISS-SPE se mostra altamente promissor, quando a possibilidade de formação da fase sólida extratora *in-situ* também pode ser estendida para demais sais de amônio quaternário, não sendo necessariamente surfactantes. Os sais de amônio quaternário, como o acetato, hidrogenossulfato ou o brometo de tetrabutilamônio, são vastamente empregados como catalisadores de transferência de fase, atuando como agentes mediadores de reações orgânicas em fases imiscíveis (LUCCHESI e MARZORATI, 2000). Uma outra aplicação dos mesmos se dá em vários processos de eletrossíntese orgânica, dos quais são empregados como eletrólitos-suporte mais adequados (SAWYER, SOBKOWJAK e ROBERTS, 1995). Com isso, surgem novas possibilidades de aprimoramento do método ISS-SPE articuladas às aplicações em físico-química e em química orgânica, dos quais ainda não foram exploradas.

Realizando-se uma inspeção acerca da publicação dos últimos trabalhos abordando o desenvolvimento do método ISS-SPE, foi encontrado somente um único registro envolvendo a extração de arsênio em amostras de água, alimentos e amostras biológicas. O trabalho reporta a extração de arsênio nas partículas de surfactante formadas *in-situ*, dos quais foram sedimentadas por centrifugação. O arsênio extraído e pré-concentrado foi recuperado pela adição de um solvente adequado, e determinado por ETAAS (EZODDIN, MAJIDI e ABDI, 2015). A literatura ainda não apresenta trabalhos baseados no método ISS-SPE com emprego de outros sais de amônio quaternário, e que sejam aplicados a especiação de arsênio por meio da técnica de geração de hidretos (HG AAS), que é uma técnica reconhecidamente consolidada para determinações sensíveis e seletivas.

A partir dos fatos apresentados, tem-se o interesse no desenvolvimento de um método de especiação de arsênio em amostras de alimentos vulneráveis a contaminação deste elemento, como o arroz. Pretende-se empregar o método ISS-SPE no intuito de promover a análise de especiação não-cromatográfica, através da técnica de geração de hidretos. O espectrômetro de absorção atômica por chama (FAAS) pode muito bem ser empregado na técnica HG AAS, e a instrumentação necessária se encontra disponível na grande maioria dos laboratórios de análise química.

O trabalho desta tese visa abraçar essa proposta, com características que possam agregar valor diante de situações em que se faz necessário o monitoramento de arsênio em regiões que não se dispõem de uma infraestrutura de ponta para tal estudo. A grande maioria dos trabalhos que refletem o atual estado da arte da especiação de arsênio, destacam o uso

de equipamentos sofisticados como HPLC-IPC-MS. Entretanto diante da necessidade de investimento de métodos mais simples, baratos e sustentáveis, os métodos não-cromatográficos vem gradativamente se mostrando mais atrativos.

Visando economia de custos, menor laboriosidade e baixo consumo de amostra e reagentes, a técnica de geração de hidretos pode ser adaptada para sistemas de análise por injeção em fluxo, de forma mais simples do que a aquisição de acessórios disponibilizados comercialmente pelas empresas de instrumentação. A maioria desses acessórios é bem mais caro, do que a construção de sistemas automatizados com válvulas solenoides ou injetores manuais. Além disso, tais acessórios não colaboram nessa proposta de economia, uma vez que a maioria dos sistemas geradores de vapor comerciais operam em fluxo contínuo, consumindo quantidades bem maiores de amostra e reagentes, e conseqüentemente gerando altas quantidades de resíduos.

A realidade econômica do país não prevê uma perspectiva otimista em subsidiar a implementação de infraestrutura adequada para a pesquisa. Essa falta de investimentos compromete a eficiência do controle de qualidade alimentar relacionados a exposição e toxicidade de espécies químicas. Diante da problemática exposta frente a necessidade de determinação de arsênio em amostras de alimentos, esta tese tem como missão contribuir para o desenvolvimento de um método simples, econômico e de forma mais acessível a comunidade que apresenta recursos precários e carente desse monitoramento.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Arsênio

O arsênio é um semi-metal pertencente ao grupo VA da tabela periódica, de número atômico 33 e massa atômica de 75 Da. É tóxico; carcinogênio, segundo a classificação IARC* e o vigésimo elemento mais abundante da crosta terrestre ($1,8 \text{ mg Kg}^{-1}$). Suas características físicas são: cristalino, incolor, inodoro, quebradiço e de brilho quase metálico. Ocorre naturalmente no ambiente em vários estados de oxidação (-3,0, +3 e +5). O arsênio tem se tornado cada vez mais um elemento alarmante, devido aos efeitos de alteração no sistema nervoso, doenças pulmonares e ulcerações na pele (arsenicose)(MA, SENGUPTA, *et al.*, 2014).

A ocorrência natural de arsênio está intimamente associada com o ambiente geoquímico, através de depósitos vulcânicos, se manifestando principalmente pelo mineral arseno-pirita (FeAsS), considerado seu minério mais importante (AMARAL, NÓBREGA e NOGUEIRA, 2013). É encontrado também na atmosfera, solos e plantas. As principais fontes de contaminação são devidas as atividades antrópicas, envolvendo exploração mineral, queima de carvão, fundição de cobre e uso de fertilizantes, bem como herbicidas e pesticidas. Por outro lado, é sabido que compostos de arsênio eram utilizados no passado em tratamentos médicos, e até hoje são ainda encontrados em medicamentos utilizados no tratamento contra leucemia promielocítica (SOIGNET, FRANKEL, *et al.*, 2001).

O arsênio pode se manifestar tanto como inorgânico [As(III) e As(V)], quanto em uma variedade de compostos orgânicos, dos quais se destacam as formas metiladas MMA e DMA, e os biocompostos derivados de arseno-acúcares e arseno-lipídeos. A dosagem letal mediana ($\text{LD}_{50} / \text{mg Kg}^{-1}$) para as espécies As(III) , As(V) , MMA e DMA são respectivamente 34,5; 41; 1200 e 1800. Maior atenção é dirigida às espécies inorgânicas, por apresentarem um grau de toxicidade maior do que os compostos orgânicos de arsênio (JAIN e ALI, 2000). No ecossistema aquático, o arsênio é predominantemente encontrado nas formas inorgânicas como oxianions. Em condições aeróbias, prevalece a espécie pentavalente As(V) , enquanto que a espécie As(III) predomina em condições anaeróbias ou em ambiente neutro. Tais espécies podem se interconverter com alteração nas condições redox, bem como pela ação do pH (KWON, ZHANG, *et al.*, 2004; CULLEN e REIMER, 1989).

As propriedades toxicológicas dos compostos inorgânicos de arsênio em animais, se devem principalmente a espécie As(III) , que sob ação de hidrólise ácida, é tiol-reativa. Sendo assim, são capazes de inibir enzimas ou alteram o estado natural das proteínas por agirem com grupos tióis provenientes de resíduos de aminoácidos sulfurados. O arsênio pentavalente, por sua vez, é um desacoplador da fosforilação oxidativa mitocondrial, através

de um mecanismo provavelmente relacionado à substituição competitiva mimética, do arsenato pelo grupo fosfato, na formação do trifosfato de adenosina (ATP). Já a forma mais tóxica, o gás arsina (AsH_3), uma vez inalado, chega a corrente sanguínea podendo causar hemólise (COUNCIL, 1999).

As espécies metiladas de arsênio como o ácido monometil arsônico (MMA) e o ácido dimetil arsínico (DMA), são biodisponíveis no ambiente como metabólitos em vários microrganismos, como as bactérias *E. coli*, *Flavobacterium sp*, *Methanobacterium sp* e fungos como *Aspergillus glaucus* que apresentam a capacidade de biometilar arsênio (MANDAL e SUZUKI, 2002). A biometilação de arsênio trata-se de um mecanismo de redução da toxicidade, sendo que no corpo humano, esse processo ocorre nos rins afim de reduzir a afinidade do composto para com os tecidos do órgão, dos quais podem ser mais facilmente excretados pela urina (CHATTERJEE, DAS, *et al.*, 1995). Para indivíduos expostos ao arsênio inorgânico, as principais formas encontradas na urina são 60-80% como DMA, 10-20% como MMA e 10-20% como arsênio inorgânico (APOSHIAN e APOSHIAN, 2006; MEZA, KOPPLIN, *et al.*, 2004).

Os compostos de arsênio são facilmente absorvidos, tanto oralmente quanto por inalação, sendo que a extensão dessa absorção depende das propriedades físico-químicas de cada espécie, principalmente a solubilidade. Logo os efeitos tóxicos das espécies de arsênio são fortemente dependentes da sua forma química.

A exposição humana a elevados níveis de arsênio ocorre principalmente por meio do consumo de água contaminada e alimentos preparados com essas águas. Concentrações alarmantes de arsênio em águas foram relacionadas à ocorrência de dermatites (arsenicose), câncer de pele, problemas cardíacos, cânceres internos e vários outros tipos de intoxicações ocorridos em países da Europa, como a Sérvia (JOVANOVIC, JAKOVLJEVIC, *et al.*, 2011), e também em Bangladesh, no continente asiático (SMITH, LINGAS e RAHMAN, 2000). A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA-US) revisou o limite regular de arsênio para água potável de 50 para $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (WHO, 2010), sendo este o mesmo valor de concentração tolerada na legislação brasileira, segundo a resolução CONAMA 357/2005 e Portaria 2914/2011 (CONAMA, 2011). Como resultado dessa nova norma, novas tecnologias vêm sendo desenvolvidas para um monitoramento mais adequado e redução dos níveis desse contaminante.

No Brasil, esse elemento é encontrado muitas vezes associado em jazidas de ouro, especialmente no estado de Minas Gerais, na região do Quadrilátero Ferrífero, de onde foram registrados índices críticos de contaminação. Foi constatado que amostras de águas subterrâneas coletadas nas cidades de Ouro Preto e Mariana-MG chegaram a apresentar níveis de até $2980 \mu\text{g L}^{-1}$ de arsênio total (BORBA, FIGUEIREDO e CAVAICANTI, 2004). Os

habitantes de Paracatu, também em Minas Gerais, estão expostos à intoxicação crônica pelo arsênio liberado pela mineradora canadense Kinross Gold Corporation desde 1987.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO), em um estudo conduzido juntamente com o “Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) / WHO e Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA)” em 2010, foi determinado o valor de 3,0 µg de arsênio inorgânico absorvido por dia para cada quilo em peso corporal. Este valor foi definido como limite inferior da dosagem para constatar aumento de 0,5% da incidência de câncer de pulmão (BMDL_{0,5}), através de dados epidemiológicos. O Comitê constatou ainda que a quantidade tolerada de arsênio inorgânico anteriormente estabelecida (15 µg Kg⁻¹ em massa corporal), foi nas regiões de BMDL_{0,5} e portanto não estava apropriado. Logo esse valor foi retirado pelo comitê, e nenhum novo valor que especificasse o nível tolerado de arsênio inorgânico foi estabelecido (WHO, 2010).

Uma das preocupações está intimamente ligada ao uso de aditivos alimentares como parte de estratégias nutricionais. Eventualmente, se emprega um estimulante organoarsênico denominado Roxarsone[®] na alimentação das aves visando garantir uma melhor pigmentação da carne, promover uma aceleração do crescimento, aumentar o peso das aves e eliminar os parasitas causadores de doenças (CARBONELL-BARRACHINA, AJ, *et al.*, 2009). Esse composto pode ser facilmente convertido nas formas mais tóxicas desse elemento. Trabalhos na literatura mostram que um micro-organismo do gênero *Clostridium* é capaz de converter em menos de 10 dias o Roxarsone[®] em arsenato. No Brasil, o herbicida organoarsenical metanoarsenato monossódico (MSMA), conhecido comercialmente como Daconate[®], de curta persistência é autorizado para aplicação nas culturas de ervas daninhas de café, algodão, cana-de-açúcar e cítricos (DEVESA, VÉLEZ e MONTORO, 2008). Os principais compostos de arsênio, dos quais são empregados como insumos aditivos mencionados anteriormente, e que são de interesse em investigação, estão relatados na Tabela 1.

Tabela 1. Alguns compostos de arsênio de associados a impactos ambientais, segundo GONÇALVES, 2011.

CAS N°	Nome	Fórmula e/ou Estrutura
75-60-5	Ácido dimetilarsínico (<i>ácido cacodílico</i>)	
98-72-6	Ácido 4-nitrofenilarsônico (<i>Nitarsone[®]</i>)	

139-93-5	Dihidrocloreto de 4,4-arsenobis(2-aminofenol) (<i>Salvarsan</i> [®])	
98-50-0	Ácido (4aminofenol)-arsônico	
121-59-5	Ácido [4-(aminocarbino- amino)fenil] arsônico (<i>Cabarsone</i> [®])	
124-58-3	Ácido metilarsônico (sal sódico: <i>MSMA Daconate</i> [®])	
121-19-7	Ácido 3-nitro-4-hidróxifenilarsônico (<i>Roxarsone</i> [®])	
554-72-3	Ácido [4-(2-amino-2-oxoetil)amino-fenil] arsônico (<i>Triparsamida</i> [®])	
593-88-4	Trimetilarsina	(CH ₃) ₃ As
595-57-7	Dimietilarsina	(CH ₃) ₂ AsH
593-52-2	Metilarsina	CH ₃ AsH ₂
1303-33-9	Sulfeto de arsênio (III)	As ₂ S ₃
1327-53-3	Óxido de arsênio (III)	As ₂ O ₃
1303-28-2	Óxido de arsênio (V)	As ₂ O ₅
4964-14-1	Óxido de trimetilarsina (<i>TMAO</i>)	
7784-46-5	Arsenito de sódio	

7778-43-0	Arsenato de sódio	
7778-39-4	Ácido arsênico	
7784-34-1	Cloreto de arsênio (III)	AsCl ₃
10102-53-1	Ácido <i>meta</i> -arsênico	HAsO ₃
13768-07-05	Ácido arsenioso	HO—As=O
27742-38-7	Íon tetrametilarsônio	
39895-81-3	Arsenocolina	
64436-13-1	Arsenobetaína	
*****	Arseno-açúcar	
*****	Fitoquelatina ^a (Tipo 2) GLY: glicina CYS: cisteína GLU: glutamima	
*****	Fitoquelatina ^a (Tipo 3) CYS: cisteína GLU: glutamima	

^a Extraída de NEARING, KOCH e REIMER, 2014

Como a biodisponibilidade e os efeitos toxicológicos do arsênio no organismo humano dependem essencialmente da forma química das espécies, o conhecimento acerca de sua

transformação no meio ambiente torna-se muito importante. Por meio dessa importância, é que a análise de especificação química vem sendo cada vez mais explorada, para que sejam normatizados os valores de dosagens toleradas referente a cada espécie de arsênio em águas, alimentos, solo e na atmosfera. Para tanto, necessita-se da evolução constante dos métodos disponíveis, para que sejam considerados oficiais na separação e determinação dessas espécies.

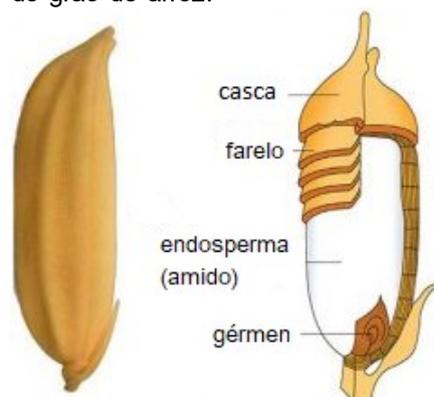
2.2. Arroz

O arroz (*Oryza sativa L.*) é um cereal originário da Ásia, onde muitas culturas apresentam evidências e registros arqueológicos do cultivo de arroz desde 7000 a 5000 a.C. o cultivo do arroz foi se desenvolvendo e difundindo para outros continentes e hoje desempenha um importante papel no aspecto econômico e social, além de ser um dos principais alimentos de subsistência humana (FRAGA, 2013).

No Brasil, o consumo médio varia de 74 a 76 kg/habitante/ano, tomando-se por base o grão em casca (DORS, PINTO e BADIALE-FURLONG, 2009). A produção anual de arroz é de aproximadamente 606 milhões de toneladas, e nesse cenário o Brasil participa com 13.140.900 toneladas (2,17% da produção mundial) e destaca-se como único país não asiático entre os 10 maiores produtores.

A estrutura do grão de arroz (Figura 3) consiste da cariopse (farelo) e de uma camada protetora, a casca. A casca, composta de duas folhas modificadas, a pálea e a lema, corresponde a cerca de 20% do peso do grão. A cariopse é formada por diferentes camadas, sendo as mais externas o pericarpo, o tegumento e a camada de aleurona, que representam 5-8% da massa do arroz integral. A camada de aleurona apresenta duas estruturas de armazenamento proeminentes, os grãos de aleurona (corpos proteicos) e os corpos lipídicos. O embrião ou gérmen está localizado no lado ventral na base do grão, é rico em proteínas e lipídios, e representa 2-3% do arroz integral. O endosperma forma a maior parte do grão (89-94% do arroz integral) e consiste de células ricas em grânulos de amido e com alguns corpos proteicos (WALTER, MARCHEZAN e AVILA, 2008).

De forma geral, além do amido, o arroz é constituído por quantidades menores de proteínas, lipídios, fibras e minerais. Entretanto, a composição do grão e de suas frações está sujeita a variações ambientais, de manejo, de processamento e de armazenamento, produzindo grãos com características nutricionais diferenciadas. Além disso, os nutrientes não estão uniformemente distribuídos nas diferentes frações do grão. As camadas externas apresentam maiores concentrações de proteínas, lipídios, fibra, minerais e vitaminas, enquanto o centro é rico em amido (ZHOU, ROBARDS, *et al.*, 2002).

Figura 3. Morfologia e composição do grão de arroz.

Fonte: <http://www.officialteamlift.com/es/arroz-blanco-o-integral/> (Acesso em 04/08/2018)

O grão de arroz, antes de estar na forma adequada para ser adquirido pelo consumidor, é submetido por processos de beneficiamento. As três principais formas em que o arroz beneficiado é consumido, em ordem de importância são: o arroz branco, o arroz integral e o arroz parboilizado.

O beneficiamento tem início com a separação da casca do restante do grão. Nesta etapa obtém-se o arroz integral sem sofrer nenhum processo de polimento, ou seja, somente a retirada da parte que recobre o grão, conhecido como farelo de arroz. Já o arroz parboilizado, termo adaptado do inglês *partial boiled*, é o arroz parcialmente cozido com a casca. Neste processo, o grão absorve nutrientes da casca como elementos químicos e vitamina. Assim, o arroz pode ser parboilizado e depois descascado fornecendo o arroz integral ou descascado e posteriormente polido (EMBRAPA, 2013).

Tendo em vista a importância do arroz na cultura e alimentação da população, variações na composição química, das quais se destacam aquelas resultantes do genótipo e do beneficiamento, podem contribuir para as dietas de maneira diferenciada. Quanto à influência do processamento, há relatos de diferenças expressivas nos teores de gordura, fibra alimentar e minerais e fenóis entre o arroz branco e o integral (ZHOU, ROBARDS, *et al.*, 2004). Já o processo de parboilização, influencia significativamente os teores de minerais e amido digestível. Com isso, dependendo do processo ao qual o grão de arroz for submetido, a composição química pode ser modificada e assim influenciar na composição da dieta (DORS, PINTO e BADIALE-FURLONG, 2009; STORCK, 2004).

A concentração de minerais difere nas frações do grão. Enquanto no arroz com casca o silício é o componente dominante, no arroz integral e polido, destacam-se fósforo, potássio e magnésio. Ferro e zinco, dois minerais essenciais para a saúde humana, estão disponíveis em baixas concentrações no grão. Devido à importância do arroz na alimentação, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para aumentar a concentração

de minerais no grão, principalmente desses elementos. Uma das formas utilizadas é o melhoramento convencional, a partir de genótipos com maior concentração destes minerais, visto que existe grande variação na concentração de ferro ($2 - 52 \mu\text{g g}^{-1}$) e zinco ($6 - 28 \mu\text{g g}^{-1}$) entre genótipos. A transgenia também vem sendo utilizada com esse objetivo (ITANI, TAMAKI, *et al.*, 2002).

O conteúdo mineral é fortemente influenciado pelas condições de cultivo, incluindo fertilização, condições do solo e pelo processamento. De forma geral, os minerais apresentam-se em maior concentração nas camadas externas do grão, conforme pode ser observado na Tabela 2, com aproximadamente 72% no farelo e 28% no grão polido. Entretanto, alguns minerais apresentam distribuição mais uniforme, como sódio e cálcio, permanecendo no arroz branco polido 63% do sódio e 74% do cálcio do arroz integral. Embora o arroz integral tenha maior concentração de minerais do que o polido, isso não significa necessariamente maior quantidade de minerais absorvidos pelo organismo, visto que a biodisponibilidade pode ser afetada pela presença de maiores teores de fibra e ácido fítico no arroz integral (JULIANO, 1985).

Tabela 2. Teor de minerais encontrados na composição química em arroz integral e em arroz branco polido.

Mineral	Arroz integral	Arroz branco polido
Macrominerais (mg g^{-1} , com 14% de umidade)		
Cálcio	0,1-0,5	0,1-0,3
Magnésio	0,2-1,5	0,2-0,5
Fósforo	1,7-4,3	0,8-1,5
Potássio	0,6-2,8	0,7-1,3
Silício	0,6-1,4	0,1-0,4
Enxofre	0,3-1,9	0,8
Microminerais ($\mu\text{g g}^{-1}$, com 14% de umidade)		
Alumínio	0,3-26,0	0,2-22
Cádmio	0,02-0,16	0,025
Cloro	210-560	200,0-300,0
Cobalto	0,03-0,04	0,017
Cobre	1,0-6,0	2,0-3,0
Iodo	0,03	0,02
Ferro	2,0-52,0	2,0-28,0
Manganês	2,0-36,0	6,0-17,0
Níquel	0,02-0,5	0,14

Selênio	0,3	0,3
Sódio	17,0-340,0	5,0-86,0
Zinco	6,0-28,0	6,0-23,0

O arroz, diferente dos outros cereais é cultivado geralmente em solos inundados, onde condições anaeróbias somadas ao excesso de água levam a mobilização do arsênio e, conseqüentemente ao aumento do acúmulo da planta. Vários estudos relatam elevadas concentrações de arsênio em arroz cultivado em solos irrigados com águas contaminadas (RAHMAN, HASEGAWA, *et al.*, 2008; RAHMAN e HASEGAWA, 2011; SMITH, KEMPSON, *et al.*, 2009). O As(III), espécie mais tóxica, tem alta solubilidade e mobilidade no solo, sendo eficientemente absorvido pelas raízes, chegando aos grãos e sendo incorporado na cadeia alimentar. Por esses motivos a presença de arsênio em amostras de arroz vem sendo avaliada em vários países. Porém, no Brasil, um país onde este alimento é muito consumido, há pouca informação sobre a concentração total de arsênio e sobre suas espécies.

No Brasil, as legislações vigentes que estabelecem os limites máximos de tolerância para arsênio em alimentos são a Portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998 da Secretaria da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde; decreto nº 55871 de 26 de março de 1965. Os limites estabelecidos por essa portaria estão indicados na Tabela 3, e para todos os outros alimentos que não foram citados nesta portaria, é adotado como limite máximo o valor de 1,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ de acordo com o referido decreto.

Tabela 3. Limite máximo de tolerância para arsênio em alimentos.

Alimento	Limite máximo As / $\mu\text{g g}^{-1}$
Gorduras vegetais e emulsões	0,1
Gorduras hidrogenadas	0,1
Açúcares, caramelos e balas	1,0
Bebidas alcóolicas e fermento-destiladas	0,1
Cereais e produtos de cereais	1,0
Gelados comestíveis	1,0
Ovos e produto de ovos	1,0
Leite e fluídos prontos para o consumo	0,1
Mel	1,0
Peixes e produtos de peixe	1,0
Chá, mate e derivados	1,0

Fonte: Portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde; Decreto nº 55871 de 26 de março de 1965.

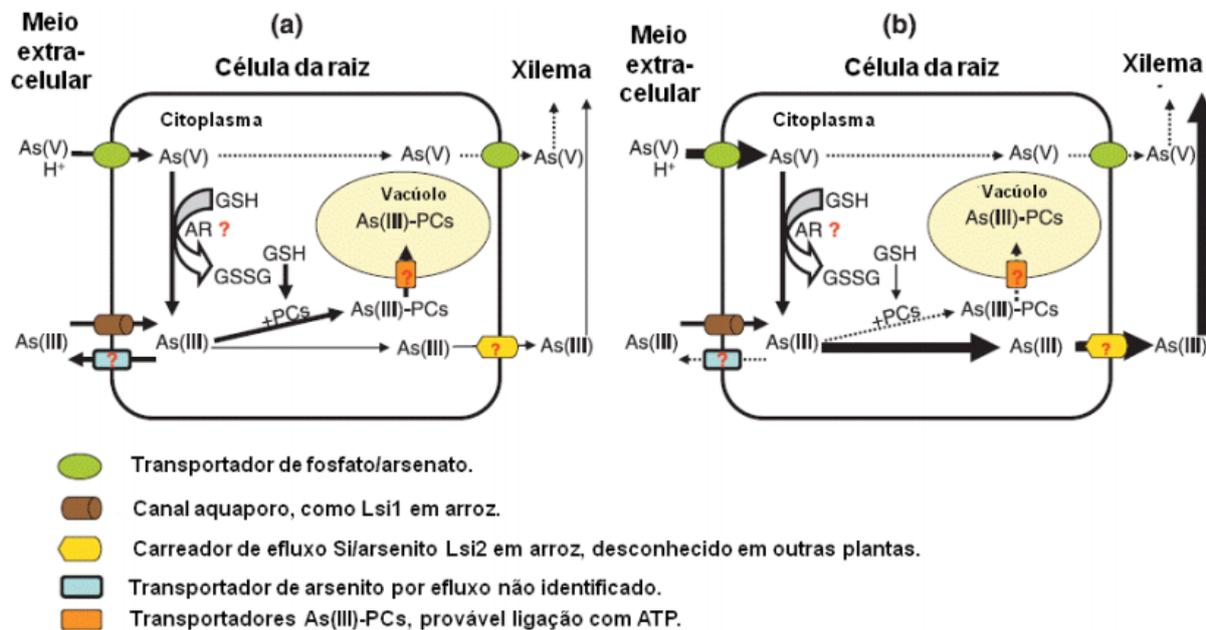
Com relação ao arroz brasileiro, tanto a concentração total de As quanto as espécies do elemento já foram detectadas em amostras de arroz submetido a diferentes processamentos. No trabalho realizado por Batista empregando HPLC-ICP-MS, foi possível estimar o quanto diariamente os brasileiros consomem de arsênio em suas determinadas espécies, mediante ingestão de arroz. Foi estimado um consumo diário de As(III), As(V), MMA e DMA em $7,72 \mu\text{g g}^{-1}$; $3,45 \mu\text{g g}^{-1}$; $0,71 \mu\text{g g}^{-1}$ e $7,49 \mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente, considerando uma porção de 86,5 gramas de arroz por pessoa (BATISTA, SOUZA, *et al.*, 2011).

O grande interesse na determinação de arsênio em arroz, se deve ao fato da planta possuir grande facilidade em acumular arsênio em seus grãos. O arroz é capaz de absorver eficientemente o arsênio, onde a concentração desse elemento no grão pode chegar a ser 10 vezes superior quando comparada com outros cereais como o trigo e a cevada (MEHARG e RAHMAN, 2002). A facilidade da planta de arroz em absorver arsênio pode estar relacionado com o tradicional método de cultivo, envolvendo a inundação contínua e controlada da cultura, onde condições anaeróbias somadas ao excesso de água, levam a uma maior mobilidade de metais e metaloides no meio e, conseqüente acúmulo em seus grãos. Contudo, o acúmulo de arsênio pode ser devido às próprias características da planta, pois teores significativos de As também podem ser encontrados em arroz cultivado de modo não irrigado (BATISTA, SOUZA, *et al.*, 2011; LI, STROUD, *et al.*, 2009).

É sabido que algumas plantas como o arroz apresentam a capacidade de acumular elementos metálicos ou metaloides tão rapidamente, por meio de agentes quelantes naturalmente presentes na constituição vegetal, denominados fitoquelatinas (PC) dos quais são substâncias com importância de detoxicação e de potencial fitoremediador do meio (ZHAO, LI, *et al.*, 2015). Nas raízes do arroz, o arsenito é absorvido principalmente via transportadores de ácido silícico e o arsenato por competição com fosfato devido as similaridades químicas. Por outro lado, as formas metiladas MMA e DMA, são absorvidas mais lentamente que as formas inorgânicas (ABEDIN, FELDMANN e MEHARG, 2002).

Na Figura 4 é mostrado esquematicamente o processo de absorção e metabolismo de arsênio pelas células de raízes de plantas não hiperacumuladoras, como o arroz, e em plantas hiperacumuladoras, como uma espécie de samambaia *Pteris vittata*. Após ser incorporado nas células da raiz, o arsenato é prontamente convertido em arsenito e o efluxo dos canais Lsi2 expõe para o xilema. Esse mecanismo é o mais importante no controle do efluxo de silício e arsenito das raízes, sendo essencial para diminuir o acúmulo de arsênio. Pode-se observar ainda que a planta possui, além do efluxo de arsênio e a conversão em arsenato, alguns sistemas de proteção através do sequestro do elemento para os vacúolos, mediante complexação com as denominadas fitoquelatinas. Essas fitoquelatinas, são compostos ricos em grupos tiol provenientes da glutatona (GSH) (BATISTA, 2012).

Figura 4. Esquema representativo da absorção de arsênio e metabolismo por células de raízes de (a) plantas não hiperacumuladoras e (b) plantas acumuladoras. A espessura da linha indica a capacidade de efluxo. A linha pontilhada indica o efluxo mais lento. As interrogações indicam lacunas conhecidas. **GSH:** glutatona; **GSSG:** glutatona oxidada; **PC:** fitoquelatina.



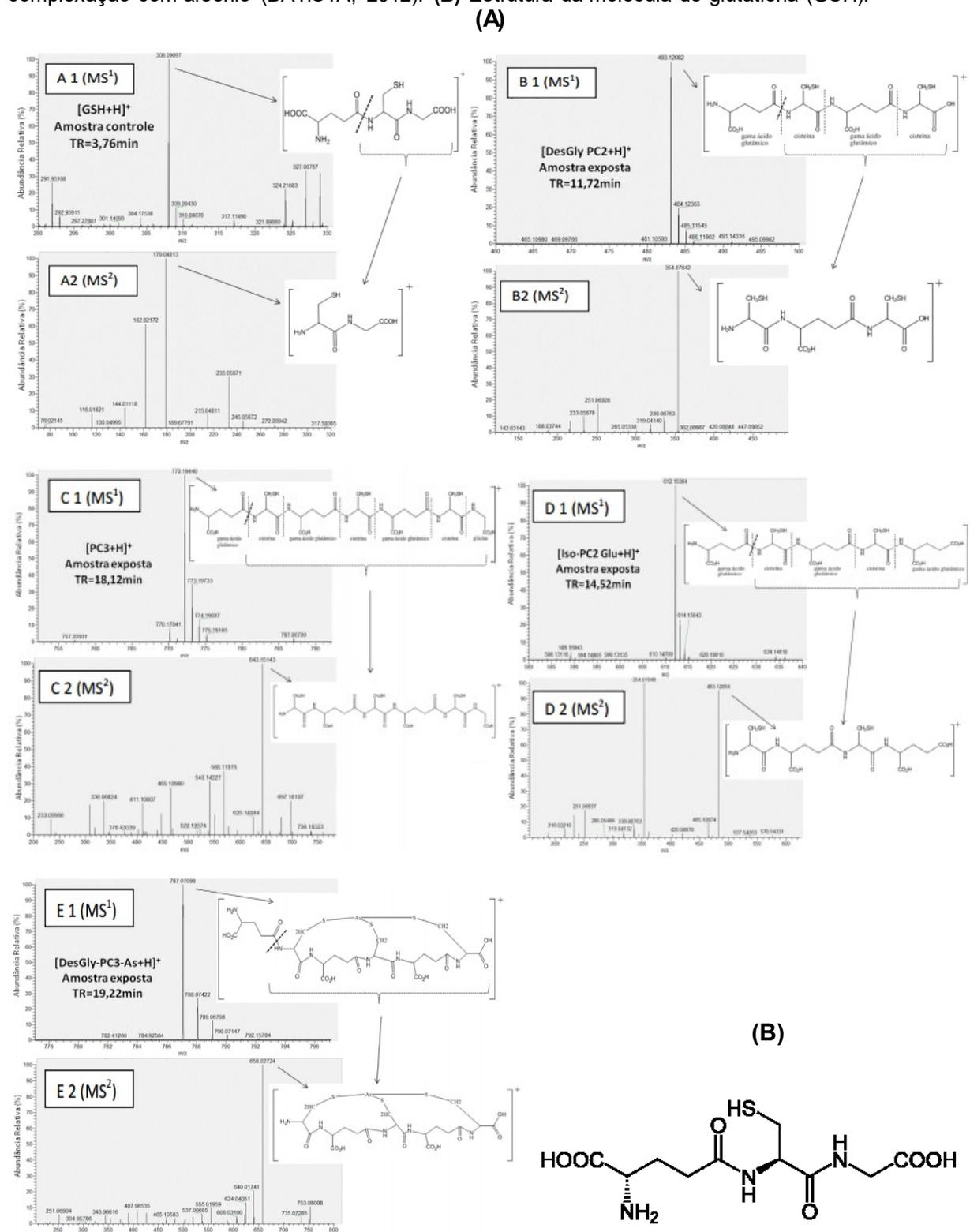
Fonte: Batista, B. L. (2012)

A produção das fitoquelatinas pode ser induzida pela exposição da planta a vários íons como prata, cádmio, cobre, mercúrio, chumbo, selênio e também o arsênio. Estruturalmente as fitoquelatinas são relacionadas a fragmentos não-peptídicos derivados da glutatona, em uma sequência $(\gamma\text{-GLU-CYS})_n\text{GLY}$, onde n varia de 2 a 5 repetições, sendo as fitoquelatinas dos tipos 2 e 3 as formais mais comuns (COBBETT e GOLDSBROUGH, 2002).

Duan e colaboradores conseguiram realizar um estudo sobre os diferentes tipos de acúmulo de arsênio ligado as fitoquelatinas (PCs-As) e o estímulo a produção das fitoquelatinas entre diferentes meios de cultivo do arroz. Os autores concluíram que as fitoquelatinas exercem um papel essencial na translocação de arsênio e o seu acúmulo nos grãos de arroz (DUAN, HU, *et al.*, 2011). Diante dessa conclusão, Batista propôs em seu trabalho um estudo acerca da identificação e a concentração de PCs-As e das fitoquelatinas livres envolvidas no metabolismo para melhor conhecimento sobre a influência das mesmas na translocação do arsênio e suas espécies na planta de arroz. Batista pode concluir nesse estudo que, quanto maior o fator de transferência raízes-caule, maior o fator de transferência raízes-grão, apresentando PCs-As do tipo DesGLY-PC2; PC3; Iso-PC3-GLU-As e DesGLY-PC3-As com uma influência sob a transferência do arsênio das raízes para os grãos

(BATISTA, 2012). Para tanto, são apresentados na Figura 5, os resultados obtidos por Batista sobre a análise dos grãos de arroz (cultivo de Itálica Carolina) por HPLC-ICP-MS:

Figura 5. (A) Espectro de massas obtidos para amostras de raízes de arroz do cultivo de Itálica Carolina, do qual se observa a fragmentação das moléculas de fitoquelatinas e sua relação na complexação com arsênio (BATISTA, 2012). (B) Estrutura da molécula de glutatona (GSH).



2.3. Especificação Química e o Preparo de Amostras

Sabe-se atualmente, que a determinação da concentração total de um elemento é uma informação limitada, especialmente no que diz respeito sobre o seu comportamento no meio ambiente e aos danos que pode causar à saúde. Para estimar o risco envolvido é preciso levar em consideração a variação na toxicidade, o transporte e a biodisponibilidade, que são dependentes da forma química em que o elemento está presente.

Para um diagnóstico efetivo do grau de toxicidade por meio da contaminação por espécies inorgânicas de arsênio em arroz, é necessário o desenvolvimento de metodologias analíticas adequadas para identificar e quantificar as espécies. A extração líquido-líquido ou em fase sólida convencional, bem como amostragens ativas e passivas de material particulado disperso em gases podem ser utilizadas para tal finalidade. No entanto a maioria destas técnicas é limitada, pois não tendem a combinar uma capacidade de separação eficiente com a sensibilidade e a seletividade requeridas para a determinação em baixas concentrações. Para tanto, são lançadas estratégias analíticas de enriquecimento do analito de forma quantitativa e seletiva. Neste contexto, os métodos de especificação são classificados em cromatográficos e não-cromatográficos (COSTA, 2013).

A literatura apresenta vários artigos de revisão que apresentam uma sequência de métodos de especificação cromatográficos e não-cromatográficos dedicados ao arsênio em amostras de alimentos, e principalmente o arroz. Dentre essa série de trabalhos, tem-se uma vasta discussão sobre os procedimentos mais adequados para o pré-tratamento das amostras frente a técnica de determinação selecionada, de forma que o equilíbrio de distribuição das espécies disponíveis não é afetada. (COSTA, COELHO, *et al.*, 2016; REZENDE, ALMEIDA, *et al.*, 2014; CARVALHO, NASCIMENTO, *et al.*, 2004; WELNA, SZYMCZYCHA-MADEJA e POHL, 2015).

Métodos cromatográficos hifenados, como HPLC-ICP-MS tem se tornado preferíveis e mais comumente utilizadas para esta finalidade. Dentre as principais vantagens podem ser apontadas extrema sensibilidade, capacidade multi-elementar, amplo intervalo de linearidade e capacidade de determinação isotópica. A literatura apresenta várias publicações que reforçam a viabilidade do emprego de HPLC-ICP-MS no estudo de especificação de arsênio em amostras de arroz. Alguns trabalhos estão relatados na Tabela 4 e detalhados a seguir:

KIM *et. al.* determinaram As (III), As (V), DMA, MMA, AsC e AsB em amostras de grãos de arroz cultivadas na Korean e nos USA utilizando HPLC-ICP-MS. As(III) foi a espécie predominantemente encontrada nas amostras com respectivamente 70 e 64% de distribuição em relação às demais espécies estudadas. Os resultados indicaram elevado efeito tóxico e necessidade de maiores atenções (KIM, KIM, *et al.*, 2013).

SANZ *et al.* realizaram análise de especiação de arsênio em amostras de arroz, palha, solo, cabelo e unha em regiões afetadas por contaminação com arsênio nas planícies oriental e ocidental do baixo Ganga e Bangladesh. As espécies determinadas foram As total, As (III), As(V), DMA, MMA e AsB por HPLC-ICP-MS. Para as amostras de arroz, o conteúdo de arsênio inorgânico corresponde de 70 – 98% do teor de arsênio total (máximo de 636,7 µg/Kg nas amostras analisadas). Os autores indicam que a análise de especiação se revela como uma poderosa ferramenta para avaliação analítica completa em estudos epidemiológicos (SANZ, MUÑOZ-OLIVAS, *et al.*, 2007).

SANZ, OLIVAS *et al.* estudaram procedimento alternativo para extração de As(III), As(V), MMA e DMA em amostras de arroz obtidas na Espanha e Basmatian India. A especiação foi realizada também por HPLC-ICP-MS. A extração das espécies de arsênio ocorreu por meio da atuação enzimática de α -amilase e sonicação com sonda ultrassônica em curto intervalo de tempo (3 min). O procedimento de extração otimizado se mostrou eficiente em relação aos métodos convencionais, evitando o uso de solventes orgânicos de alta periculosidade. Foram detectados somente As(III) e DMA nas amostras de arroz, com predominância da espécie trivalente. Os resultados confirmam que a planta do arroz é bioacumulativa para espécies tóxicas de arsênio (SANZ, MUÑOZ-OLIVAS e CÁMARA, 2005).

São reportados também estudos que demonstram algumas limitações acerca dos métodos cromatográficos: NEARING *et al.* propõe em um artigo de revisão algumas técnicas complementares no estudo de especiação de arsênio por meio da combinação do HPLC-ICP-MS com XAS para suprir a falta de informações estruturais e a necessidade de procedimentos de extração prévia que podem ser incompletas ou provocar alteração nos compostos de arsênio (NEARING, KOCH e REIMER, 2014). No contexto desta revisão, os autores encorajam a análise direta de especiação de arsênio em amostras sólidas, como ocorre no caso do arroz.

Apesar dos métodos cromatográficos hifenados contribuírem significativamente para aprimorar o estudo de especiação de arsênio, ainda assim são dispendiosos, fazendo com que o desenvolvimento de métodos não-cromatográficos sejam ainda mais estimulados como uma proposta promissora mais acessível.

Um dos principais desafios em análise de especiação é manter a representatividade amostral e a integridade das espécies químicas de interesse desde o momento da amostragem até à etapa de detecção. Se tratando de métodos não-cromatográficos, muitas vezes são necessários procedimentos de extração seletiva baseados na partição do analito em uma fase de polaridade compatível e de pequeno volume. Tais procedimentos de extração tem a vantagem de uma pré-concentração e minimização de efeitos de matriz.

Além do desafio de prevenir inter-conversão das espécies durante as extrações, a maioria dos procedimentos acaba sendo restrito apenas para espécies inorgânicas, e ainda

são poucos os estudos de uma especiação completa não-cromatográfica que possa envolver espécies metiladas e orgânicas de arsênio. Esse desafio torna procedimentos de especiação não-cromatográfica ainda mais promissores, abrindo uma oportunidade para aprimoramento de pesquisas voltadas a esse foco.

Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (HG-AAS) tem sido uma instrumentação bastante apropriada para análise de especiação de arsênio, uma vez que a liberação do vapor do hidreto pode se tornar seletiva à espécie trivalente com ajuste adequado de pH. Usualmente arsênio total pode ser determinado após condições otimizadas, por meio de uma etapa de pré-redução de As(III) utilizando-se L-cisteína, tiourea, iodeto de potássio, dentre outros enquanto que As(V) é determinado indiretamente por diferença da concentração de As total e As(III).

CERVEIRA *et. al.* realizaram estudo de especiação de arsênio em amostras de arroz cultivadas no Brasil por HG-AAS. Geração seletiva de As(III) foi obtida com 0,1% (m/v) de NaBH₄ e 10 mol/L de HCl. Arsênio total foi determinado através da pré-redução de todo o conteúdo de arsênio inorgânico nas mesmas condições utilizadas para As(III), utilizando ácido ascórbico 1%(m/v) e iodeto de potássio 0,2%(mv). As(V) foi estimado por diferença (CERVEIRA, POZEBON, *et al.*, 2015).

CHEN *et. al.* utilizaram um procedimento de extração em fase sólida por meio de um cartucho com trocador fortemente aniônico para separar a espécie As(V) das formas orgânicas em amostras de arroz. Após pré-redução com iodeto, arsênio inorgânico foi quantificado por Espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos (HG-AFS) (CHEN e CHEN, 2013).

GÜRKAN and ALTUNAY desenvolveram um método simples e de baixo custo empregando extração por ponto nuvem com pareador iônico para determinação de traços de espécies de arsênio em água, bebidas e também em amostras de arroz. O método baseia-se na formação de um complexo ternário do As(V) com laranja de acridina (AOH⁺), um corante fluorescente catiônico na presença de ácido tartárico e extraído para o meio micelar do surfactante não-iônico Triton X-114 em pH 5. O complexo foi detectado por Espectrofotometria UV-vis em 494nm (GÜRKAN, KIR e ALTUNAY, 2015).

COSTA *et. al.* também empregaram a extração por ponto nuvem para determinar espécies de arsênio em amostras de arroz cultivadas no Brasil e submetidas às principais formas de beneficiamento (branco, integral e parboilizado). O procedimento consistiu na formação de um complexo heteropoliácido de As(V) com molibdato em meio de ácido sulfúrico, do qual foi extraído para o meio micelar de Triton X-114. Foi utilizado Espectrometria de Absorção Atômica com atomização Eletrotérmica (ETAAS) com tubos atomizadores de grafite modificados permanentemente com irídio para detecção das espécies de arsênio. As(III) foi oxidado com permanganato de potássio para determinação de arsênio total como

As(V). O método apresentou sensibilidade suficiente para detectar espécies de arsênio em todas as amostras analisadas. Foi encontrado As(V) somente nas amostras de arroz integral e parboilizado, sendo que os resultados indicaram que estas foram as formas de beneficiamento de maior teor de arsênio total e As(V), respectivamente (COSTA, COELHO e COELHO, 2015).

LOPES-GARCÍA *et. al.* propuseram um método interessante para especiação completa de arsênio em alimentos para bebês à base de peixe, por Espectrometria de Absorção Atômica Eletrotérmica (ETAAS) sem a necessidade de procedimentos de extração prévia. A especiação foi baseada na utilização de três diferentes atomizadores de grafite modificados quimicamente para obtenção dos sinais analíticos. (LÓPEZ-GARCÍA, BRICEÑO e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2011).

PASIAS *et. al.* determinaram arsênio total, arsênio inorgânico total e espécies inorgânicas de arsênio por ETAAS em amostras de arroz e farinha de arroz. Os autores desenvolveram diferentes métodos para determinação de arsênio total e arsênio inorgânico total baseado na extração seletiva impedindo a perda e a transformação dos analitos. Para a detecção, foram avaliados diferentes tipos de modificadores (permanentes e em solução) e pela primeira vez, foram testados nanopartículas de paládio (Pd-NPs) e platina (Pt-NPs) como potenciais modificadores químicos. (PASIAS, THOMAIDIS e PIPERAKI, 2013).

O emprego de nanopartículas como uma nova classe de modificadores químicos tem levado a obtenção de sinais com detectabilidade aprimorada e mais livres da interferências da matriz. GUNDUZ *et. al.* tem demonstrado a viabilidade de nanopartículas de ouro (Au-NPs) como modificador químico, uma vez que por estarem na forma elementar não podem reagir com concomitantes da matriz, não sendo portanto fator de interferência. Os resultados apontam a permanência de arsênio no tubo atomizador de grafite em altas temperaturas com sinais de fundo quase nulo, sendo uma opção promissora a ser aplicada na especiação de arsênio em amostras com matrizes complexas, como no caso de alimentos (GUNDUZ, AKMAN, *et al.*, 2011).

A tabela 5, retrata as condições e os parâmetros experimentais obtidos para os estudos citados de especiação não-cromatográfica de arsênio em amostras de arroz.

Tabela 4. Alguns métodos cromatográficos para especiação de arsênio em arroz empregando HPLC-ICP-MS.

Espécies	Preparo da Amostra	Figuras de Mérito	Referência
As (III), As(V), DMA, MMA, AsC e AsB.	Espécies de arsênio foram extraídas por meio de digestão por micro-ondas com 1% de HNO ₃ .	LD: 0,5 µg Kg ⁻¹ e LOQ: 1,5 µg Kg ⁻¹ para AsC; LD: 0,1 µg Kg ⁻¹ e LOQ: 0,5 µg Kg ⁻¹ para AsB, As(III), MMA e DMA; LD: 0,3 µg Kg ⁻¹ e LOQ: 0,9 µg Kg ⁻¹ para As(V). Recuperação: 91,38–114,26%	KIM, KIM, <i>et al.</i> , 2013
As total, As(III), As(V), DMA, MMA e AsB.	Extração líquido-pressurizado com sonicação por sonda ultrassônica combinado com mistura enzimática.	Recuperação da soma das espécies: 71,8 – 104,5%	SANZ, MUÑOZ-OLIVAS, <i>et al.</i> , 2007
As(III), As(V), DMA e MMA	Digestão por micro-ondas com 2 mL de HNO ₃ concentrado para As total. Digestão por micro-ondas com 10 mL de HNO ₃ 2% para arsênio inorgânico.	LD: 0,03 µg L ⁻¹ para As total	MAHER, FOSTER e F. KRIKOWA, 2013
As(III), As(V), MMA e DMA	0,3 g de arroz + 3 mL de água + 10 mL de α-amilase. Sonicação por sonda ultrassônica por 180s.	LD: 0,05 µg Kg ⁻¹ para As(III); LD: 0,2 µg Kg ⁻¹ para as demais espécies. Recuperação: 82-99%	SANZ, MUÑOZ-OLIVAS e CÁMARA, 2005
As(III), As(V), MMA e DMA	Espécies de arsênio foram extraídas com 1% de HNO ₃ .	LD: 0,01µg L ⁻¹ para As total; LD: 0,07 µg L ⁻¹ para as espécies de arsênio. Recuperação: 95-100%	SUN, WILLIAMS, <i>et al.</i> , 2009
MMA, DMA, As(III)+As(V)	As total foi determinado após mineralização das amostras por sistema de micro-ondas pressurizado. As inorgânico e espécies metiladas foram extraídas por 15 minutos de sonicação da suspensão da amostra com 0,02 M de CF ₃ COOH e 50 µL de H ₂ O ₂ 30% seguida da extração em sistema de micro-ondas pressurizado em etapa única.	LD: 1 µg Kg ⁻¹ para As(III)+As(V); LD: 0,5 µg Kg ⁻¹ para DMA e MMA. Recuperação: 94-98%	RABER, STOCK, <i>et al.</i> , 2012

LD: Limite de Detecção

Tabela 5. Alguns métodos não-cromatográficos para especiação de arsênio em arroz e em outras amostras de interesse ambiental e clínico.

Espécies	Preparo da Amostra	Deteção	Figuras de Mérito	Referências
As inorgânico total, As (III) e As(V)	Extração das espécies de arsênio por meio da digestão assistida por micro-ondas com HNO ₃ 0,14M ou aquecimento em banho-maria com HNO ₃ 0,28M. Arsênio total foi determinado após extração alcalina com K ₂ S ₂ O ₈ e HNO ₃	HG-AAS	LD: 1,96 ng g ⁻¹ para As(III) LD: 3,85 ng g ⁻¹ para As inorgânico total.	CERVEIRA, POZEBON, <i>et al.</i> , 2015
As(III) e As(V)	Digestão das amostras de arroz por micro-ondas, utilizando solução extratora de HNO ₃ 0,06M com H ₂ O ₂ 3% (m/v). SPE: Vortex com 25 mL de solução (NH ₄) ₂ CO ₃ 0,05M condicionadas à vácuo no cartucho com 2 mL de metanol e eluição com 2 mL de HCl 0,5M	HG-AFS	LD: 1,3 ng g ⁻¹ LQ: 4,4 ng g ⁻¹ Recuperação: 94% para As(III) e 95% para As(V)	CHEN e CHEN, 2013
Arsênio total, As(III) e As(V)	Amostras de arroz foram sonicadas em 35°C durante 45 min com 3 mL de HCl 0,3M e 2 mL de HNO ₃ 0,2M. Interconversão foi controlada com e sem adição de 1 mL de H ₂ O ₂ 0,5M ou 1 mL de H ₂ SO ₄ 0,5M. CPE: 5,0×10 ⁻⁶ M e 1,5×10 ⁴ M de AOH ⁺ e ácido tartárico em um volume final de 50 mL. 3 mL de Triton X-114 5,0% (m/V), 0,6 mL de NaCl 0,01M.	UV-vis	LD: 1,14 µg L ⁻¹ FPC: 65 Recuperação: 95-102%	GÜRKAN, KIR e ALTUNAY, 2015
As total, As(V)	Amostras de arroz foram submetidas à sonicação por 136 min com 10 mL de HNO ₃ 0,5M.	ETAAS	LD: 10 ng L ⁻¹ LQ: 33 ng L ⁻¹ FPC: 78,3. Recuperação: 90,8-113,1%	COSTA, COELHO e COELHO, 2015

As inorgânico, MA, DMA e AsB	Foram preparadas suspensões das amostras com solução de 0,01M de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). A suspensão foi aquecida a 180°C por 10min e sonicada por 10 min.	ETAAS	LD: 15 ng g ⁻¹ para AsB; LD: 25 ng g ⁻¹ para DMA; LD: 50 ng g ⁻¹ para (As(III) + As(V)) + MMA	LOPEZ-GARCIA, BRICEÑO e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2011
As inorgânico total, As total, As(III) e As(V)	Amostras de arroz foram digeridas por micro-ondas com 5 mL de HNO ₃ 65% para extração de As total. Para extração de As inorgânico total e As(III) as amostras foram digeridas com 5 mL e 10 mL de HNO ₃ 1M respectivamente. 5 mL EDTA 5%(m/v) foi utilizado como agente mascarante de íons interferentes.	ETAAS	LD: 22,1 µg Kg ⁻¹ e LOQ: 66,3 µg Kg ⁻¹ para As total; LD: 30,1 µg Kg ⁻¹ e LOQ: 90,3 µg Kg ⁻¹ para As inorgânico total; LD: 19,0 µg Kg ⁻¹ e LOQ: 57,0 µg Kg ⁻¹ para As(III) Recuperação: 92-105%	PASIAS, THOMALDIS e PIPERAKI, 2013
As(III), As(V), As orgânico total: MMA, DMA, TMAO, AsC e AsB	Amostras de água e urina foram tamponadas a pH 3,5 e submetidas ao procedimento de micro-extração em fases múltiplas com nanopartículas de sílica mesoporosa amino-funcionalizada em meio de líquido iônico assistido por ultrassom.	ETAAS	LD: 0,003 µg L ⁻¹ LQ: 0,011 µg L ⁻¹ FPC: 100,5 Recuperação: 95 -103%	SHIRKHANDLOO, GHAZAGHI, <i>et al.</i> , 2017

LD: Limite de Detecção; LQ: Limite de Quantificação; FPC: Fator de pré-concentração.

2.4. Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos

A espectrometria de absorção atômica é considerada como uma técnica analítica bem-sucedida na determinação de elementos, principalmente se tratando de metais e semi-metais. É possível realizar a análise em uma grande variedade de amostras, sejam estas líquidas, sólidas, em suspensão, e até mesmo gasosas, podendo ser associada a sistemas de análise por injeção em fluxo e permitir também estudos de especiação, a depender do atomizador empregado (chama, forno de grafite, filamento de tungstênio, celas de quartzo, dentre outros) (WELZ e SPERLING, 1999).

A propriedade que alguns elementos como As, Se, Sb, Sn, Ge, Pb, Bi e Te apresentam em formar hidretos voláteis à temperatura ambiente, possibilitou o desenvolvimento da técnica de geração de hidretos, principalmente associada à Espectrometria Atômica (HENDEN, ISLEK, *et al.*, 2011). A história do método de geração de hidretos teve início em 1969, quando Holak publicou um artigo do qual descrevia as condições adequadas para determinação de arsênio por AAS (HOLAK, 1969), e desde então as determinações foram estendidas aos demais elementos que apresentam essa propriedade, sendo denominado de forma geral como a técnica de geração química de vapor.

A derivatização por geração de hidretos em fase gasosa ainda é o método mais utilizado para determinação sensível de arsênio por espectrometria atômica em diversas matrizes. Sua popularidade se deve as seguintes vantagens: separação da espécie analítica da matriz, alta eficiência no transporte do hidreto à cela de atomização, o que resulta na boa sensibilidade, além de ser uma técnica de fácil automação (COELHO, 1995).

De forma geral, o método se baseia na conversão da espécie de interesse em um hidreto covalente gasoso, podendo ser coletado quando necessário, e transportado ao atomizador por meio de um gás de arraste inerte (geralmente nitrogênio ou argônio), onde ocorre o processo de atomização do hidreto para subsequente determinação do elemento. Os hidretos são formados em meio ácido na presença de um agente redutor, o qual pode ser um metal ou um reagente específico.

Nos primeiros trabalhos, os sistemas de redução metal/ácido eram os mais comumente utilizados. Entretanto, o emprego de redutores metálicos era restrito a geração de hidreto de poucos elementos, além de demandar muito tempo para promover a reação e o sistema de coleta ser muito susceptível a interferências, perdas e sensibilidade limitada devido ao amplo fator de diluição do hidreto na etapa de introdução em atomizadores por chama (THOMPSON e THOMERSON, 1974).

Algumas destas limitações foram minimizadas com o emprego do borohidreto de sódio como agente redutor. O uso desse reagente possibilita obter um sistema com alta eficiência

e cinética rápida sobre uma ampla faixa de pH, podendo ser aplicado para um número maior de elementos, tanto por sistemas em batelada quanto em fluxo.

O mecanismo mais aceito pelo qual ocorre a geração do hidreto a partir da redução com borohidreto de sódio em meio ácido, ocorre por meio da transferência direta do hidrogênio ligado ao boro para o analito por meio da substância a ser analisada, através da formação de complexos intermediários, com evolução de gás hidrogênio, conforme as seguintes equações (D'ULIVO, 2010):



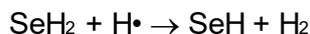
O transporte do hidreto formado diretamente para uma chama de ar-acetileno foi realizado no início do desenvolvimento da técnica. Entretanto, a alta absorção de fundo e a baixa sensibilidade causada pela diluição do hidreto com os gases da chama foram um dos aspectos para que a técnica não fosse bem aceita. Somente a partir da utilização de tubos de quartzo como atomizadores, é que a técnica passou a se tornar bem estabelecida (TAKASE, PEREIRA, *et al.*, 2002).

O atomizador de quartzo consiste de um tubo no formato de "T", que é colocado sobre o queimador ou suporte adequado que permita o seu alinhamento no caminho óptico. O mesmo é aquecido externamente por uma chama de ar-acetileno ou eletrotermicamente através de uma manta resistora que o envolve. No canal presente na parte central do tubo ocorre a introdução do hidreto que é carregado por um gás inerte, para o interior da parte aquecida.

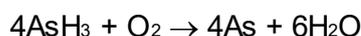
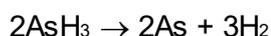
A geração de hidretos de As(III) e As(V) é criticamente dependente do estado de oxidação do elemento, estando fortemente associado com o pH do meio. De modo geral, observa-se que a espécie de menor estado de oxidação gera o hidreto com maior eficiência. Esse comportamento é devido à lenta cinética de conversão do As(V) para As(III) pelo borohidreto de sódio (DEDINA e TSALEV, 1995). Além da geração da arsina (AsH₃), o NaBH₄ também pode converter as espécies metiladas de arsênio em hidretos voláteis, formando assim a monometilarsina (CH₃AsH₂) e dimetilarsina [(CH₃)₂AsH], provenientes respectivamente do MMA e DMA (FEATHERSTONE, BUTLER, *et al.*, 1998).

Com relação aos mecanismos propostos para atomização do hidreto, os mais aceitos são: por decomposição térmica ou via radical hidrogênio. No primeiro, o hidreto é decomposto termicamente em temperatura acima de 2000 °C, formando átomos do elemento de interesse. No mecanismo via radicais hidrogênio, uma nuvem de radical hidrogênio é formada e interage com o hidreto do elemento gerando átomos da espécie de interesse. Para exemplificar este

processo, os autores propuseram duas reações consecutivas para explicar a atomização do hidreto de selênio (WELZ e MELCHER, 1983; AGTERDENBOS e BAZ, 1986):



No entanto, com base na concentração do equilíbrio de radicais livres e a temperatura predominante nos tubos de quartzo, alguns pesquisadores acreditam que os radicais não estão presentes em concentrações suficientes para as reações mostradas anteriormente. Sendo assim, as seguintes equações são propostas para explicar a atomização do hidreto de arsênio, das quais são catalisadas por radicais $\text{H}\cdot$ e $\text{OH}\cdot$ (AGTERDENBOS e BAZ, 1986):



A geração química de vapor é compatível com diferentes técnicas de espectrometria atômica, tais como absorção e fluorescência atômica, forno de grafite (HG-GF AAS) emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (HG-ICP-OES), e espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente (HG-ICP-MS). Além disso, pode-se destacar a possibilidade de explorar o desenvolvimento de várias metodologias envolvendo a geração química de vapor, através da perfeita compatibilidade com procedimentos de pré-concentração. Neste contexto, Gil e colaboradores publicaram um vasto artigo de revisão abordando as diferentes formas de pré-concentração de espécies específicas antes e após a geração química de vapor dos mesmos, envolvendo extração em fase sólida e extração líquido-líquido (GIL, PACHECO, *et al.*, 2015).

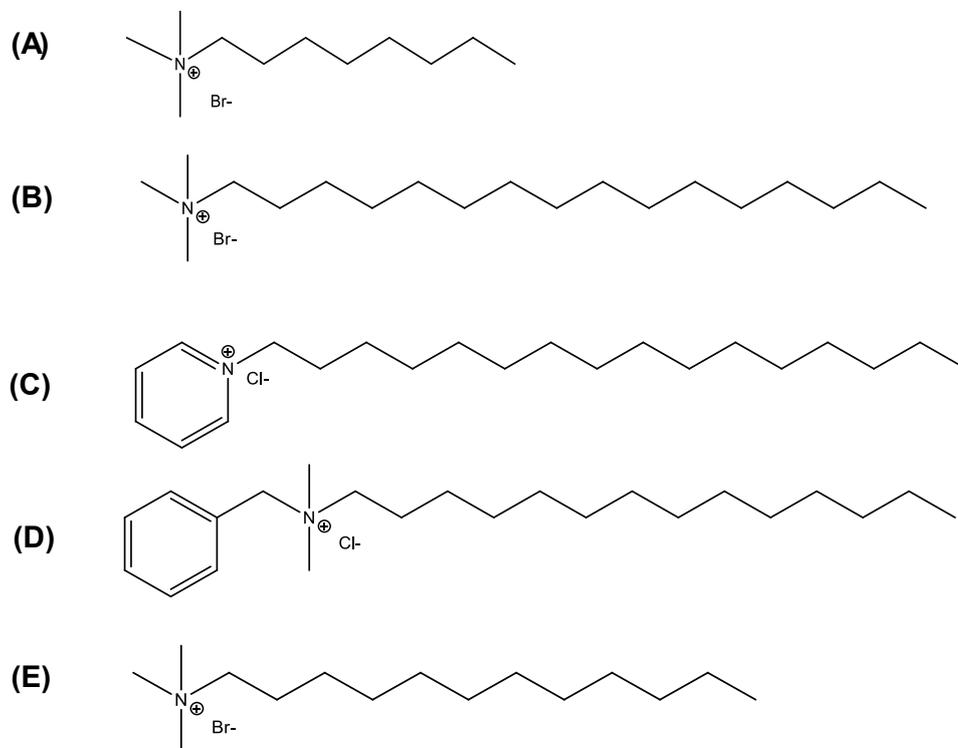
2.5. Extração em fase sólida *in-situ* baseada em surfactante (ISS-SPE)

Nos últimos anos, foi proposto um novo método de extração em fase sólida, similar a um procedimento de co-precipitação, na qual o analito pode ser extraído através de interações específicas com partículas de sais de surfactantes finamente dispersas no meio que constitui a amostra. Tal método foi denominado como extração em fase sólida baseada em surfactante e *in-situ*, do inglês *in-situ surfactante-based solid phase extraction* (ISS-SPE), tendo Yousefi e Shemirani como precursores, do qual se tem o primeiro registro de publicação em 2011 (YOUSEF e SHEMIRANI, 2011).

No método ISS-SPE tem-se um procedimento simples, rápido, seguro e eficiente. A extração ocorre por meio da dissolução de um surfactante catiônico com um grupo alquila adequado, denominado como agente transferidor de fase (ATF) na solução aquosa da amostra, seguida da adição de um agente pareador iônico (API). Devido a interação entre o surfactante e o agente pareador iônico, partículas sólidas extremamente finas são formadas e dispersas na amostra. O analito é extraído então por mecanismos de adsorção e interações hidrofóbicas entre o grupo alquílico das partículas do sorvente e as moléculas do analito. A suspensão obtida é centrifugada para sedimentar as partículas da fase sólida no fundo do tubo de centrifuga e fase aquosa é cuidadosamente removida. O sorvente sedimentado pode ser dissolvido com algum solvente orgânico adequado ou lixiviado com ácido, afim de recuperar o analito, para então ser determinado.

A Figura 6 apresenta alguns exemplos de surfactantes catiônicos, dos quais são derivados de sais de amônio quaternário com diferentes grupos alquila que podem ser empregados como ATF no método ISS-SPE.

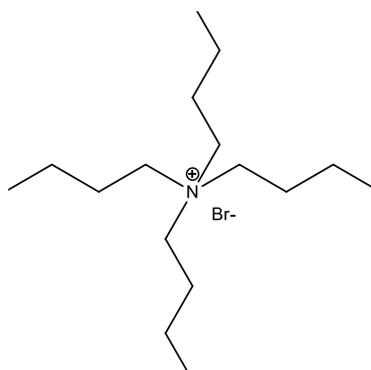
Figura 6. Principais surfactantes catiônicos empregados no método ISS-SPE. **(A)** brometo de *n*-octiltrimetilamônio (OTAB); **(B)** brometo de *n*-cetiltrimetilamônio (CTAB); **(C)** cloreto de *n*-cetilpiridínio (CPC); **(D)** cloreto de tetra-*n*-decildimetilbenzilamônio (TBAC) e **(E)** brometo de *n*-dodeciltrimetilamônio (DTAB).



Os sais de amônio quaternário tem ampla aplicação em processos industriais, por apresentar características adequadas as novas tendências sintéticas alinhadas com o conceito de Química Verde. Uma aplicação de destaque é a promoção de reações orgânicas em fases distintas por meio do processo de catálise de transferência de fase (CTF), e um dos catalisadores mais empregados nessa finalidade é o brometo de tetra-*n*-butilamônio (TBAB) (LUCCHESI e MARZORATI, 2000).

A partir dessa aplicabilidade, surgiu o interesse de investigar a capacidade do emprego de um sal de amônio quaternário que apresentasse estrutura intermediária entre um sal inorgânico e um surfactante frente ao método ISS-SPE, como é o caso do TBAB, conforme pode ser observado pela Figura 7. Para tanto, neste trabalho o emprego de TBAB foi atuante como agente transferidor de fase (ATF) para especificação de arsênio, como uma adaptação do método ISS-SPE, do qual aqui foi denominado Extração em Fase sólida baseada em sal de amônio quaternário e *in-situ* (ISQ_{AS}-SPE).

Figura 7. Estrutura molecular do sal brometo de tetra-*n*-butilamônio (TBAB), empregado como agente transferidor de fase neste trabalho.



A habilidade do sal de amônio quaternário em atuar como ATF com propriedades estruturais semelhantes ao TBAB, é devido ao menor número de átomos de carbono dispostos em cadeias distribuídas de forma mais simétrica possível. Com isso, tem-se uma menor capacidade de formação de micelas, que poderá fornecer condições termodinâmicas favoráveis a precipitação do par iônico formado. Para embasar essa argumentação, é apresentado na Tabela 6, a relação de alguns cátions de amônio quaternário (CAQ) como catalisadores de transferência de fase do íon hidróxido, em um sistema imiscível constituído de benzeno e água (STARKS, 1987).

Já o critério de escolha para um agente pareador iônico adequado, se deve a relação carga/volume do mesmo para uma interação efetiva com o ATF, de forma que a estabilidade energética resultante dessa interação eleve a variação de energia livre de dissolução do par iônico formado, levando a conseqüente precipitação do mesmo. Para os trabalhos publicados

até o momento envolvendo o método ISS-SPE, são empregados íons volumosos como o hexafluorofostato (PF_6^-) e perclorato (ClO_4^-) como API.

O grau de hidratação do ânion é o principal fator de influência para sua atuação como API. Quanto menor for o ânion, mais concentrada estará a carga negativa, maior será a sua capacidade de hidratação, e conseqüentemente menor será a associação desse com o cátion do ATF, dificultando a sua interação. Por isso a preferência para ânions volumosos, conforme citado anteriormente (LUCCHESI e MARZORATI, 2000).

Tabela 6. Influência dos grupos alquila de cátions de amônio quaternário na constante de partição do respectivo hidróxido no sistema benzeno/água (STARKS, 1987).

CAQ	Número de átomos de C	K ($[\text{OH}^-]$ benzeno/ $[\text{OH}^-]$ H_2O)
$(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$	4	0,027
$(n\text{-C}_3\text{H}_7)_4\text{N}^+$	12	0,11
$n\text{-C}_{16}\text{H}_{33}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	19	0,15
$(n\text{-C}_4\text{H}_9)_4\text{N}^+$	16	0,68

O método ISS-SPE apresenta várias vantagens, tais como: a) sorvente é formado na própria solução amostra; b) o sorvente e o suporte são os mesmos; c) o sorvente é um surfactante, considerado seguro e ambientalmente viável; d) baixo custo do método (formação do sorvente); e) simplicidade de execução; f) pequenos tamanhos de partículas e alta área superficial do sorvente promovem a extração em um curto intervalo de tempo; g) altas recuperações de extração; h) o sorvente pode ser dissolvido em solventes orgânicos como etanol (adequado para extração de analitos orgânicos em análise cromatográfica) ou lixiviados com solução ácida, sendo mais adequada para analitos inorgânicos com determinação espectrométrica (YOUSEF e SHEMIRANI, 2011).

Os autores pioneiros do método publicaram um trabalho de determinação de Co(II) e Ni(II) em amostras aquosas. Se tratando de analitos metálicos, torna-se necessário uma etapa de conversão molecular via complexação com um agente quelante de baixa polaridade adequado. Nesse caso, os autores empregaram 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) como agente complexante na concentração de $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} , ajustados a pH 5,0 para complexação simultânea de ambos os metais. A fase sólida sorvente formada foi o sal hexafluorofostato de *n*-doceciltrimetilamônio, a partir da solução do surfactante DTAB 1,0 mmol L^{-1} e o ânion PF_6^- como agente pareador iônico na concentração de 20,0 mmol L^{-1} . Após a centrifugação o sorvente foi dissolvido com 500 μL de etanol e aspirado numa chama de ar-acetileno para determinação dos metais por FAAS. Os autores obtiveram recuperações na faixa de 94 -

110%. Os limites de detecção para Ni(II) e Co(II) foram $0,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente, com fatores de enriquecimento iguais a 51 e 45 (YOUSEF e SHEMIRANI, 2011).

Mohammadi e colaboradores, desenvolveram um método ISS-SPE para pré-concentração de cobalto, níquel e zinco sem a necessidade de um agente complexante. O método foi aplicado em amostras de água para determinação dos metais por FAAS. Nesse método, os íons metálicos tiveram que reagir com o ânion carbonato (CO_3^{2-}) $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 10,5 para formar um composto de baixa solubilidade que pudesse ser rapidamente adsorvido na superfície das finas partículas da fase sólida formada. DTAB e KClO_4^- foram empregados como ATF e API. Recuperações quantitativas foram obtidas (96 – 104%) com limites de detecção de $1,0 \text{ ng mL}^{-1}$ para Co(II); $1,5 \text{ ng mL}^{-1}$ para Ni(II) e $0,3 \text{ ng mL}^{-1}$ para Zn(II). Nessa ordem, os fatores de enriquecimento foram 37,6; 35,4 e 39,6 (MOHAMMADI, AFZALI, *et al.*, 2015).

A Tabela 7 apresenta alguns trabalhos recentemente publicados abordando o desenvolvimento de métodos ISS-SPE para determinação de analitos metálicos, reportando suas características analíticas.

Tabela 7. Alguns trabalhos envolvendo ISS-SPE para pré-concentração na determinação de íons metálicos em amostras de água e alimentos.

Analito	Amostra	Ligante	ATF	API	Técnica de Detecção	Figuras de mérito	Referências
Mn(II)	Água, pimentão, noz, brócolis, amendoim e fígado bovino.	PAN 0,000015 mol L ⁻¹	DTAB 15 mmol L ⁻¹	NaPF ₆ 25 mmol L ⁻¹	FAAS	LD: 0,88 µg L ⁻¹ FE: 45,6 RSD: 3,5% Recuperação: 87 – 112,7%	YASINI, SHEMIRANI e KHANI, 2012
Co(II)	Água, espinafre e chá preto	2-nitroso-1-naftol 0,0001 mol L ⁻¹	CTAB 1,0 mmol L ⁻¹	NaClO ₄ 0,02 mol L ⁻¹	FAAS	LD: 0,8 µg L ⁻¹ FE: 50 RSD: 2,3% Recuperação: 98 – 102%	JAMALI, SOLEIMANI e RAHNAMA, 2013
Cd(II)	Água, espinafre, alface, chá preto e peixe	K-4-BPDC ^a 0,0002 mol L ⁻¹	CTAB 1,0 mmol L ⁻¹	NaPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹	FAAS	LD: 0,3 µg L ⁻¹ FE: 40 RSD: 2,2% Recuperação: 96 – 100,5%	JAMALI e BOROMANDI ,2014
Ag(I)	Águas naturais	Na ₂ CO ₃ mol L ⁻¹	DTAB 0,2 mmol L ⁻¹ (2,0 mL)	KClO ₄ 0,02 mol L ⁻¹ (2,0 mL)	FAAS	LD: 1,1 ng mL ⁻¹ FE: 36,7 RSD: 2,1% Recuperação: 96 – 102%	MOHAMMADI ,AFZALI e HESHMATI, 2013

^a 4-benzilpiperidinaditiocarbamato de potássio; FE: Fator de Enriquecimento; RSD: Desvio padrão relativo

2.6. Planejamento Experimental Multivariado

O constante avanço das técnicas instrumentais em todos os campos da ciência, inclusive a química analítica, tornou possível a obtenção de uma grande quantidade de dados numéricos que permitem uma resposta de forma mais rápida e eficiente. Neste contexto, a aplicação de ferramentas estatísticas é de fundamental importância para explorar e compreender uma gama crescente de dados e informações acerca de um sistema (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2007).

No desenvolvimento de metodologias analíticas, geralmente estão envolvidas muitas variáveis que, dependendo do nível em que são utilizadas podem influenciar diretamente na sensibilidade do método e conseqüentemente no limites de detecção e quantificação. As estratégias utilizadas para otimização dessas variáveis dependem de vários fatores, como a natureza do sinal analítico, limitação do sistema, classificação das variáveis (qualitativas ou quantitativas), dentre outras.

A otimização mais utilizada é a univariada, conhecida como “um fator por vez”. Neste tipo de otimização, as variáveis são estudadas separadamente, onde as variáveis são fixadas em um certo nível e a variável de estudo é variada em uma faixa determinada ou até que o melhor sinal seja obtido. Os resultados são de fácil interpretação, entretanto as principais desvantagens neste tipo de otimização são o grande número de experimentos necessários para realizar a otimização de um único fator, que aumenta consideravelmente com o número de fatores e a falta de informações acerca das interações entre a variável em estudo e as demais variáveis (BIANCHIN, MIOR, *et al.*, 2008). Nesse contexto, tem crescido o uso de ferramentas quimiométricas aplicadas a otimização multivariada de metodologias analíticas, como os planejamentos fatoriais e os métodos de superfície de resposta.

O planejamento fatorial é uma ferramenta estatística importante e simples, porém pouco empregada ou explorada em espectrometria atômica. A observação dos efeitos de variáveis e interações entre elas é de extrema importância para entender os processos que estão sendo monitorados em um determinado sistema. No planejamento fatorial, inicialmente são executados experimentos de triagem, com o interesse em se determinar as variáveis experimentais e as interações entre as variáveis que tem influência significativa sobre as diferentes respostas de interesse. É preciso selecionar as variáveis que são possíveis de serem estudadas e que provavelmente interferem no sistema. As variáveis que não foram selecionadas devem ser fixadas durante todo o experimento (TEÓFILO e FERREIRA, 2006).

Nesse planejamento, são investigadas as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos de interação na resposta ou respostas. Se a combinação de k fatores é investigada em dois níveis, um planejamento fatorial

consistirá de 2^k experimentos. Normalmente, os níveis dos fatores quantitativos são nomeados pelos sinais – (menos) para o nível inferior e + (mais) para o nível superior.

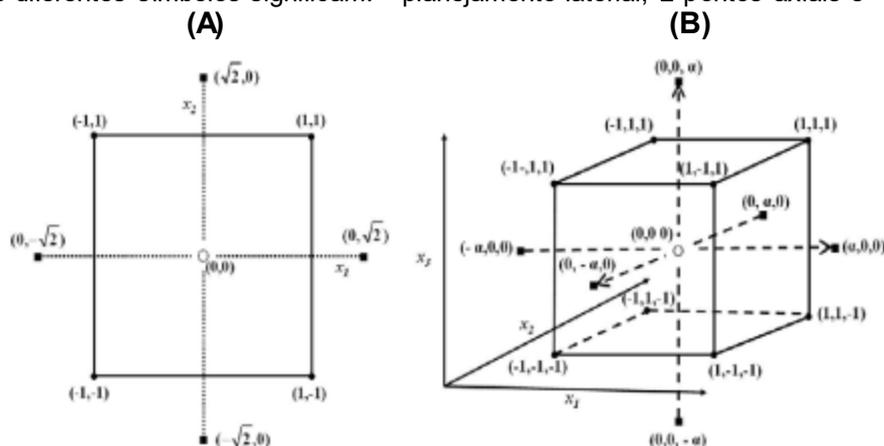
A indicação dos efeitos dos fatores selecionados, bem como os efeitos de suas interações, são interpretados num gráfico de Pareto, em que as barras horizontais estão associadas com a intensidade do efeito, os valores apontados correspondem aos próprios e o sinal indica qual dos dois níveis tem maior influência na resposta. São significativos com 95% de confiança os efeitos que estão além da linha de corte. De fato, são mais interessantes nesse gráfico quais efeitos primários são significativos e os respectivos níveis que lhes afetaram.

Após a realização dos experimentos de triagem, os fatores significativos são selecionados e uma metodologia de análise de superfície de resposta pode ser executada para otimização do experimento. A metodologia de superfície de resposta (SRM, do inglês *Surface Response Methodology*) é uma técnica de otimização baseada em planejamentos fatoriais e abrange um conjunto de procedimentos estatísticos usando na modelagem matemática de resposta. Essa técnica utiliza também planejamentos fatoriais ampliados, de segunda ordem, onde se destacam os modelos Composto Central, BoxBehnken, Matriz de Doehlert, extensamente usados nos últimos tempos (BEZERRA, SANTELLI, *et al.*, 2008).

Neste sentido, otimizar significa encontrar os valores das variáveis que irão produzir a melhor resposta desejada, isto é, encontrar a região ótima na superfície definida pelos fatores. Os planejamentos fatoriais composto central (CCD), do inglês *Central Composite Design*, possivelmente são as classes de planejamentos mais utilizadas para ajustar modelos quadráticos.

O planejamento fatorial composto com ponto central foi apresentado por Box e Wilson em 1951 como uma evolução dos planejamentos 3^3 , que necessitavam de muitos experimentos para um pequeno número de fatores. Para construção de um planejamento CCD é necessário definir o número de variáveis a serem estudadas (J), qual planejamento fatorial será empregado (completo 2^J ou fracionário 2^{J-b}) e quantos experimentos serão realizados no ponto central (normalmente, $2J + 1$). O número de experimentos a ser realizado é dado por: $2^J + 2J + 1$. A Figura 8 ilustra os pontos do domínio experimental a ser explorado em um planejamento composto central para duas e três variáveis, respectivamente.

Figura 8. Planejamentos fatoriais compostos com ponto central: (A) $J=2$ e $\alpha = 1,414 (\approx \sqrt{2})$, (B) $J=3$ e $\alpha = 1,682$. Os diferentes símbolos significam: \bullet planejamento fatorial, \blacksquare pontos axiais e \circ ponto central.



Através da análise da função da superfície de resposta, pode-se ter duas situações: Uma delas, é a função apresentar um máximo ou um mínimo (ponto crítico), que será calculado concluindo então o processo de otimização. A outra é, observar que a função não apresenta um ponto crítico e nesse caso, deve-se localizar uma nova região experimental de onde um novo planejamento deverá ser construído.

Para verificar a existência de pontos críticos, deve-se aplicar o critério de Lagrange, indicando se a ocorrência desses pontos são indicados por ponto de máximo, ponto de mínimo ou por ponto de sela. Esse critério baseia-se no cálculo do determinante Hessiano (H) da função que descreve a superfície de resposta, formada pela matriz simétrica das segundas derivadas parciais da função. O critério de Lagrange pode ser descrito pela equação a seguir:

$$H(A,B) = \left(\frac{\partial^2 Y}{\partial A^2} \right) \left(\frac{\partial^2 Y}{\partial B^2} \right) - \left(\frac{\partial^2 Y}{\partial A \partial B} \right)^2$$

Considerando uma situação onde se tem dois fatores (A e B) e uma resposta analítica Y. Se o

valor do Hessiano for maior que zero, e ainda $\frac{\partial^2 Y}{\partial A^2} < 0$ tem-se um ponto crítico máximo.

Quando O Hessiano é maior que zero tendo ainda $\frac{\partial^2 Y}{\partial A^2} > 0$, o ponto crítico é mínimo. Um

ponto de sela existe quando o determinante Hessiano é menor que zero. Assim, para

encontrar o ponto crítico, basta resolver o sistema $\begin{cases} \frac{\partial Y}{\partial A} = 0; \\ \frac{\partial Y}{\partial B} = 0 \end{cases}$ (LIMA, 2012).

Os recursos apresentados, constituem ferramentas poderosas que contribuem significativamente no fortalecimento dos métodos de especiação não-cromatográficos de forma menos dispendiosa em relação aos que são convencionalmente empregados para tal finalidade.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Desenvolvimento de um método analítico simples, sensível e seletivo para especificação química de arsênio inorgânico, através da extração em fase sólida baseada na formação *in-situ* de sal de amônio quaternário (ISQ_{AS}-SPE). Aplicação do método em amostras de arroz, bem como possíveis aplicações em algumas amostras de interesse alimentício de matrizes similares.

3.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar as partículas sorventes do sal de amônio quaternário (perclorato de tetra-*n*-butilamônio) formadas *in-situ*, compreendendo os mecanismos físico-químicos responsáveis pela extração;
- Otimizar as variáveis influentes no processo de extração seletiva de As(III) por ISQ_{AS}-SPE, empregando ferramentas quimiométricas como planejamentos fatoriais e metodologia de superfície de resposta;
- Otimizar as variáveis associadas ao sistema de detecção por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos em um sistema de análise por injeção em fluxo com zonas coalescentes em multicomutação (FIA-HG AAS);
- Estabelecer condições adequadas para especificação química, avaliando a discriminação de As(III) frente a determinação de arsênio total, bem como das espécies metiladas MMA e DMA. Verificar a interferência de concomitantes sobre tais determinações;
- Determinar os parâmetros de validação para aplicação do método em amostras de arroz, corroborando para informações acerca da disponibilidade de arsênio no grão e fornecer subsídios para controle de qualidade alimentar;

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Reagentes e Preparo de Soluções

Todas as soluções foram preparadas a partir de reagentes com grau de pureza analítico. Para o preparo das soluções e padrões, foi utilizada água deionizada de alta pureza obtida do sistema de purificação GEHAKA (São Paulo, Brasil) de resistividade 18,8 MΩ cm. Os frascos plásticos, bem como todas as vidrarias utilizadas nos experimentos foram previamente descontaminados em banho de HNO₃ (Merck) 10% v/v por 24 horas. Posteriormente, os materiais foram lavados várias vezes com água deionizada e deixados para serem secos à temperatura ambiente.

A solução padrão de As(III) foi preparada dissolvendo-se a quantidade apropriada de arsenito de sódio NaAsO₂ (Vetec) em 25,00 mL de NaOH (Synth) 0,18 mol L⁻¹ e em seguida acidificado com HCl (Scharlau*) 0,30 mol L⁻¹. Este procedimento torna o meio não-oxidante, evitando assim a conversão de As(III) a As(V). A solução padrão de As(V) por sua vez, foi preparada dissolvendo-se a quantidade apropriada do sal arsenato de sódio hepta-hidratado AsHNa₂O₄.7H₂O (Fluka) em água. Soluções padrão de trabalho foram obtidas diariamente a partir da diluição apropriada da solução estoque de 100 mg L⁻¹.

Soluções estoque das espécies metiladas de arsênio MMA e DMA, respectivamente na forma dos sais metanoarsonato monossódio sesquihidratado CH₃AsNaO₃.1,5H₂O (Chem Service) e cacodilato de sódio trihidratado C₂H₆AsNaO₂.3H₂O (Sigma-Aldrich), foram preparadas na concentração de 100 mg L⁻¹, por dissolução adequada do sal em meio de HNO₃ 0,1 mol L⁻¹. Soluções padrão de trabalho foram obtidas diariamente a partir da diluição apropriada da solução estoque em água.

Como agente redutor na geração do hidreto de arsênio, foi utilizado borohidreto de sódio NaBH₄ (Dinâmica). As soluções foram estabilizadas em meio de NaOH 0,5% (m/v) e preparadas no momento da análise. Como agente complexante, foi utilizado o sal pirrolidina ditiocarbamato de amônio APDC (Fluka), dissolvendo-se a quantidade apropriada em água para o preparo da solução estoque de 0,1% (m/v).

No estudo da redução de As(V) a As(III) na etapa de determinação de arsênio total, foram utilizadas soluções de diferentes concentrações de cloridrato de hidroxilamina NH₂OH.HCl (Proquimios); tiouréia (NH₂)₂CS (Synth); cloridrato de L-cisteína C₃H₈CINO₂S.H₂O (Synth), iodeto de potássio KI (Fisher Scientific) e ácido ascórbico C₆H₈O₆ (Synth). Para cada pré-redutor foi preparada uma solução estoque de 10,0% (m/v) pela dissolução da quantidade apropriada em água, exceto para a tiouréia que necessitou da adição de gotas de HCl sob agitação a quente para ser completamente dissolvida. Como agente mascarante, foi utilizada solução padronizada de ácido etilenodiaminotetracético EDTA 0,1 mol L⁻¹ (Haloquímica).

*Especificações do rótulo informam um teor máximo de arsênio em até 0,000001%.

4.2. Instrumentação

4.2.1. Equipamentos de procedimento analítico

Todas as análises foram realizadas em um Espectrômetro de Absorção por Chama Varian Spectra AA-220 (Victória, Austrália), equipado com lâmpada de deutério para correção do sinal de fundo (*background*). Em alguns experimentos foi adaptado o módulo de geração de vapor VGA-77 Varian (Victória, Austrália). Nitrogênio de alta pureza 99,996% - White Martins (São Paulo, Brasil), foi utilizado como gás de arraste no sistema de determinação.

Como fonte de radiação, utilizou-se lâmpada de cátodo oco de arsênio Varian (Part No. 5610122200; Serial/Lot No: 12HO796). As especificações instrumentais empregadas foram de acordo com as condições recomendadas pelo fabricante e estão apresentadas na Tabela 8. A aquisição dos sinais analíticos foi realizada por meio da altura de pico, sendo que todas as medidas foram realizadas em triplicata e descontados os respectivos valores de sinal do branco.

Para sedimentação da fase sólida, foi empregada uma centrífuga Kindly KC5 (Jaguaré, Brasil). Os valores de pH foram medidos potenciometricamente através de um pHmetro digital de bancada GEHAKA PG1800 (São Paulo, Brasil), equipado com eletrodo combinado de vidro e sensor de temperatura. Para o preparo das amostras foi utilizado um banho de ultrassom Ultra Cleaner 1400 Unique (Indaiatuba, Brasil) operando numa frequência de 40KHz.

Tabela 8. Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante do AAS para determinação de arsênio.

Parâmetro	Valor especificado
Linha de absorção λ (nm)	193,7
Largura da fenda espectral (nm)	0,5
Corrente da lâmpada (mA)	10,0
Vazão de ar (L min ⁻¹)	13,5
Vazão de acetileno (L min ⁻¹)	4,5

4.2.2. Equipamentos para Caracterização

Para elucidação de algumas propriedades físico-químicas associadas a estrutura da fase sólida extratora (micro-sorvente), algumas medidas de caracterização foram realizadas, empregando os seguintes equipamentos:

4.2.2.1. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FT-IR)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho médio foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro com Transformada de Fourier Frontier Single Range – MIR (Perkin Elmer) na região compreendida entre 4000 e 400 cm^{-1} . As análises das amostras foram feitas no estado sólido, com a utilização do acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal de diamante. O espectrofotômetro utilizado pertence ao Grupo de Materiais Inorgânicos do Triângulo (GMIT) localizado no Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais (LAFOT-CM) do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia.

4.2.2.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA COM FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X COM ENERGIA DISPERSIVA (MEV-EDXRFS)

As características morfológicas do micro-sorvente foram analisadas por meio de imagens obtidas do Microscópio Eletrônico de Varredura Vega 3 (Tescan), com ampliações da ordem de 1000 - 20 000 vezes. As amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro (20 nm) e aplicada uma voltagem de 20,0 kV. A composição elementar superficial, bem como os mapeamentos de distribuição, foram determinados através de um detector de Energia Dispersiva de Raios-X (EDXRFS) acoplado ao MEV. As análises foram realizadas no Laboratório de Multiusuários (LMIQ-UFU) do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia.

4.2.2.3. ÁREA SUPERFICIAL ESPECÍFICA (BET)

A análise da área superficial específica dos óxidos sintetizados foi realizada a partir da fisiosorção de nitrogênio gasoso, empregando o método Brunauer-Emmet-Teller (BET) a 77K. As análises foram realizadas em equipamento de porosimetria e área de superfície acelerada 2020 ASAP (Micromeritic), alocado no Laboratório Multiusuário II da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia.

4.3. Preparo da Amostra

A etapa do preparo da amostra é de extrema importância em procedimentos de especiação química. É necessário que haja uma eficiente solubilização da amostra para a liberação das espécies químicas da matriz, sem que ocorra perdas por volatilização, interconversões ou demais fatores que comprometam a representatividade amostral. Neste trabalho, foi avaliado a solubilização do material de referência certificado (CRM) como

amostra, através de decomposição alcalina, empregando o reagente Universol® 40,0% (v/v) com aquecimento em banho termostático.

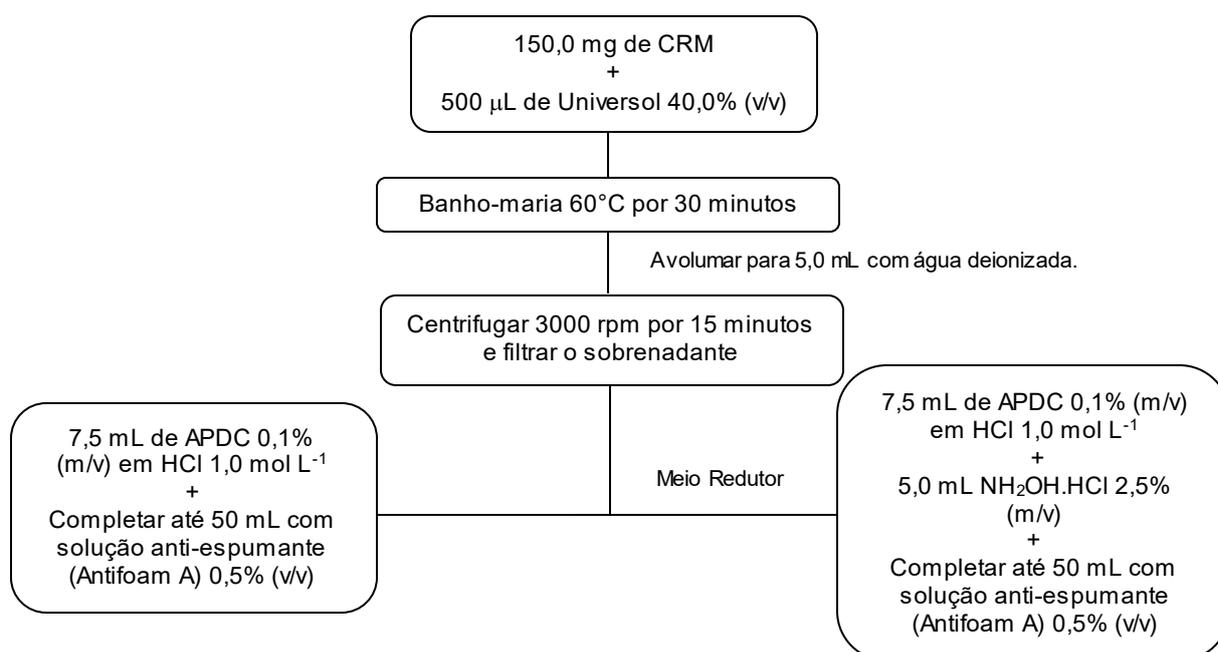
O Universol® 40,0% (v/v) é uma mistura que possui em sua composição um reagente alcalino derivado de aminas ($\text{pH} \approx 14$) e foi cedido pelo Prof. Dr. José Bento Borba da Silva da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), com solicitação de patente junto ao Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (número de pedido 01400003467).

O procedimento foi aplicado em amostra certificada de farinha de arroz para avaliar a eficiência de extração e atestar a exatidão do método proposto neste trabalho. O material de referência empregado foi o IRMM-804 *Rice Flour* (*Institute for Reference Materials and Measurements – Joint Research Centre, European Commission*), cujo valor certificado para a concentração a arsênio total é de $0,049 \text{ mg Kg}^{-1}$.

Como ainda não se dispõe de trabalhos associados a especificação de arsênio com Universol®, as condições aqui empregadas foram as mesmas reportadas por Almeida, da qual desenvolveu um método para determinação seletiva de Hg^{2+} e Hg total por Espectrometria de Absorção atômica por Vapor Frio (CV AAS) em amostras de solo (ALMEIDA, 2014). Tem-se com esse intuito, verificar a aplicabilidade de tais condições em estudos de especificação de arsênio, como no presente método.

O procedimento de decomposição alcalina da amostra com Universol® foi aplicado para a determinação de As^{3+} e As inorgânico total por ISQ_{AS}-SPE FI-HG AAS, e todos os experimentos foram realizados em frascos de polipropileno distintos de 50 mL. O esquema das etapas do processo de solubilização da amostra de material certificado e análise está demonstrada na Figura 9.

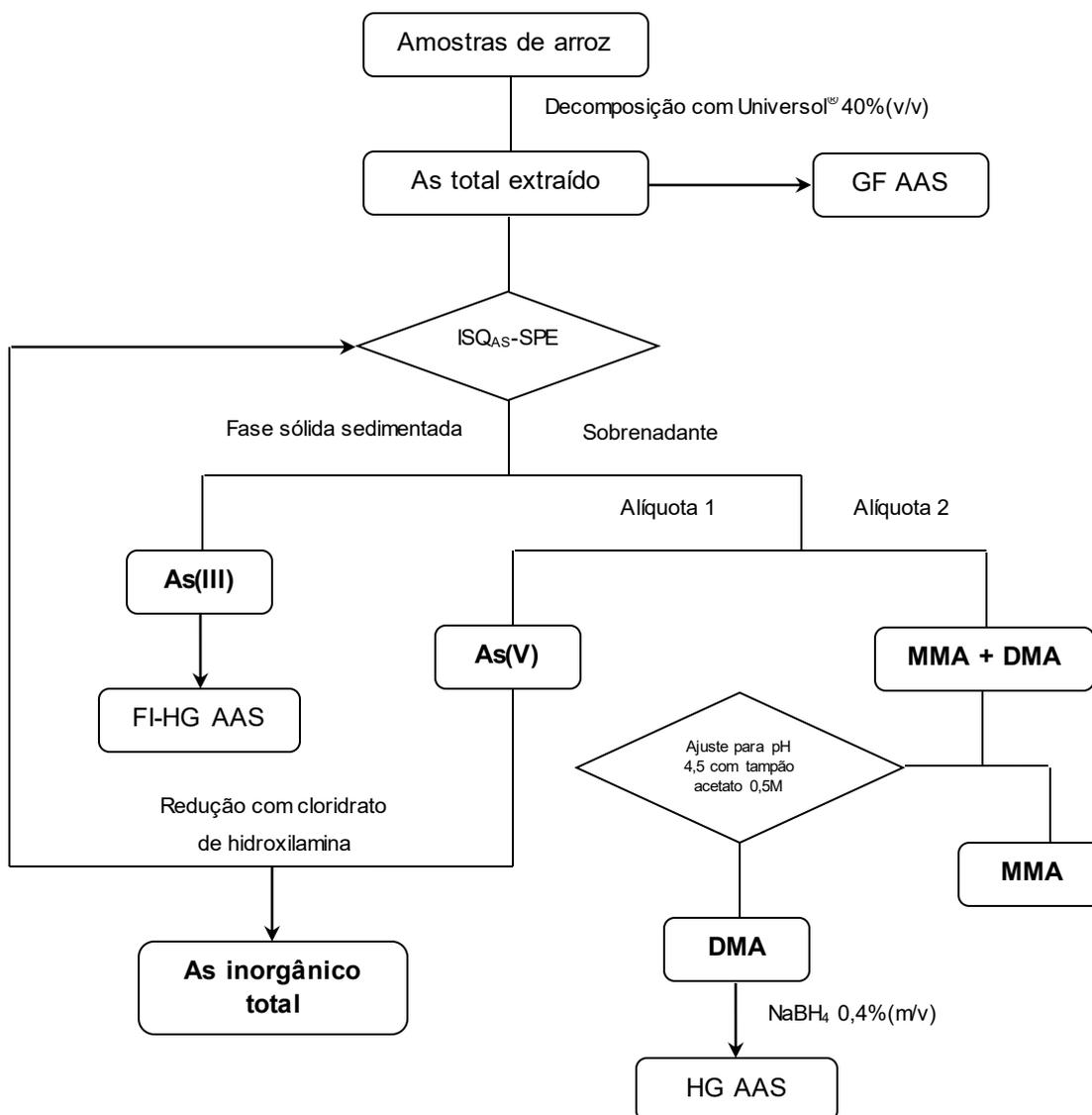
Figura 9. Esquema representativo das etapas envolvidas nos processos de solubilização da amostra.



4.4. Esquema de separação não-cromatográfica das espécies de arsênio

Baseado no objetivo definido para o desenvolvimento do método de extração seletiva por ISQ_{As}-SPE, a Figura 10 ilustra um fluxograma representativo das etapas propostas para separação não-cromatográfica das espécies de arsênio (inorgânicas e metiladas) que são de interesse nesse trabalho.

Figura 10. Fluxograma da proposta de separação não-cromatográficas das espécies de arsênio.



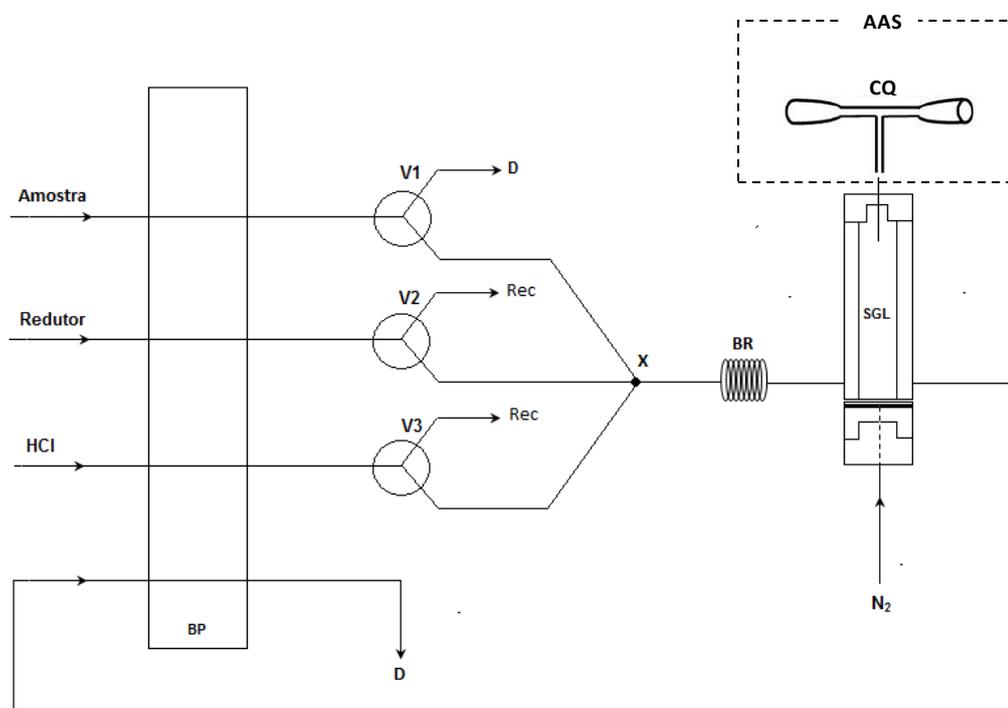
4.5. Metodologia Analítica

4.5.1. Construção do sistema FI-HG AAS

A técnica de detecção empregada neste trabalho foi baseada na espectrometria de absorção atômica com geração *on-line* do hidreto de arsênio, desenvolvido em um sistema de análise por injeção em fluxo por multicomutação (FI-HG AAS). Para tanto, foram empregadas três válvulas solenoides de três vias (NRResearch, USA), tubos de polietileno (0,8 mm de diâmetro, Ismatec, Alemanha) e uma confluência construída em acrílico com três vias de entrada e uma de saída. A propulsão das soluções reagentes (HCl e redutor NaBH₄) bem como da amostra, foi realizada por uma bomba peristáltica Miniplus 3 com 8 canais (Gilson, França) e tubos tipo Tygon® com 0,76; 1,02 e 2,29 mm de diâmetro (Ismatec, Alemanha) com capacidade de vazão adequada para cada solução. O acionamento das válvulas foi controlado por meio do software *Arduino*® com circuito integrado ULN2803 interfaceado ao computador.

A configuração do sistema FI-HG AAS com as condições preliminares para a determinação de As(III) está representada na Figura 11.

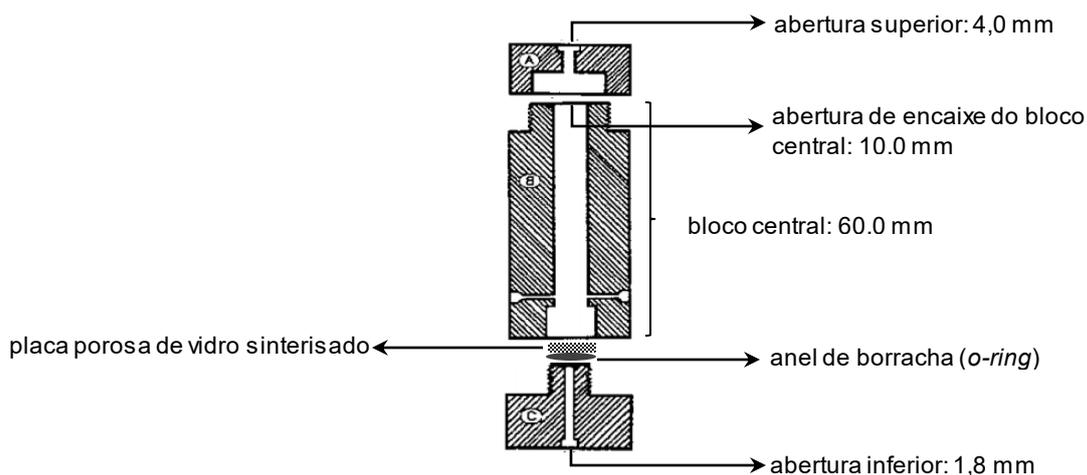
Figura 11. Esquema representativo do sistema FI-HG AAS. **BP:** Bomba Peristáltica; **V1, V2 e V3:** Válvulas solenoides de 3 vias; **X:** Ponto de Confluência; **BR:** Bobina Reacional (25 cm); **SGL:** Separador gás-líquido; **AAS:** Espectrômetro de Absorção Atômica; **CQ:** Cella de quartzo posicionada sobre o queimador; **Rec:** Recirculação dos reagentes. **D:** Descarte.



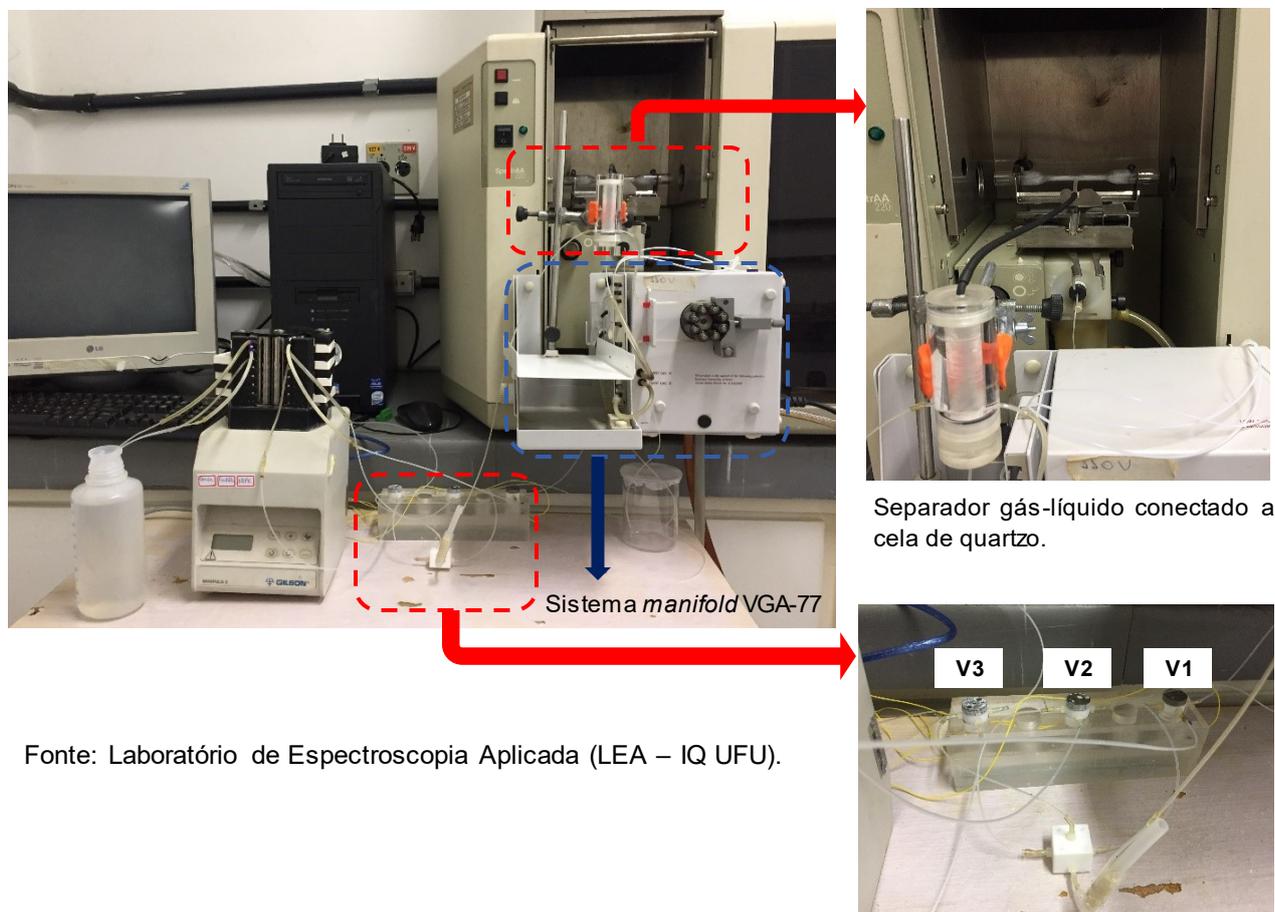
Fonte: O Autor

A inserção do gás de arraste (N_2) foi realizado por meio da adaptação do módulo comercial (sistema *manifold* VGA-77) com vazão regulada a 100 mL min^{-1} . A linha do gás foi introduzida na parte inferior de um separados gás-líquido do tipo varredura, cujas especificações são reportadas por COELHO, 1995; MORETTO, 2001 e VILARINHO, 2003. O esquema representativo deste separador gás-líquido está apresentado na Figura 12.

Figura 12. Esquema das partes do separador gás-líquido empregado no sistema FI-HG AAS.



A representação real desse sistema está ilustrada nas fotografias a seguir (Figura 13):



Fonte: Laboratório de Espectroscopia Aplicada (LEA – IQ UFU).

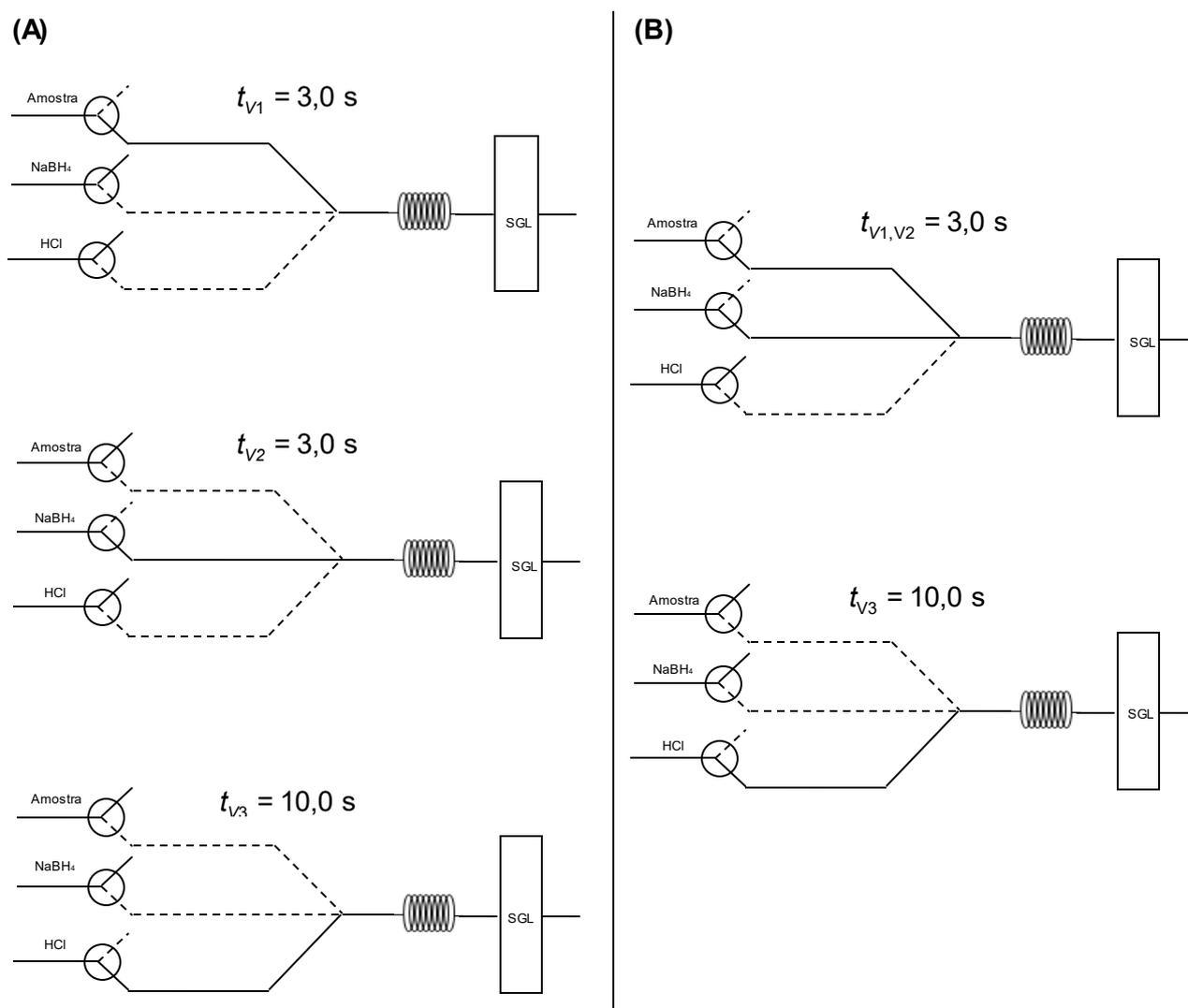
Figura 13. Representação real do sistema FI-HG AAS para determinação de arsênio, com expansão dos aparatos em destaque (vermelho). Fotografias: O Autor.

Sistema FIA com multicomutação: Válvulas solenoides, confluência e bobina reacional.

4.5.2. Estudo do modo de injeção

Foi realizado inicialmente um estudo sobre o modo de injeção da amostra e dos reagentes frente a sensibilidade de detecção de arsênio pelo sistema FI-HG AAS. O modo de injeção consistiu no acionamento das válvulas de forma em que se pudesse avaliar o efeito da injeção dos mesmos de forma consecutiva (acionamento sucessivo e sequencial das válvulas) ou simultânea. Duas curvas de calibração para As(III) foram construídas, sendo uma baseada no modo de injeção consecutivo, conforme representado na Figura 14A e outra para o modo de injeção simultâneo (Figura 14B).

Figura 14. Esquema simplificado representativo do sistema FI-HG AAS no modo de injeção **(A)** consecutivo e **(B)** simultâneo. — Fluxo ativado, - - - Fluxo desativado, t tempo de acionamento das válvulas.

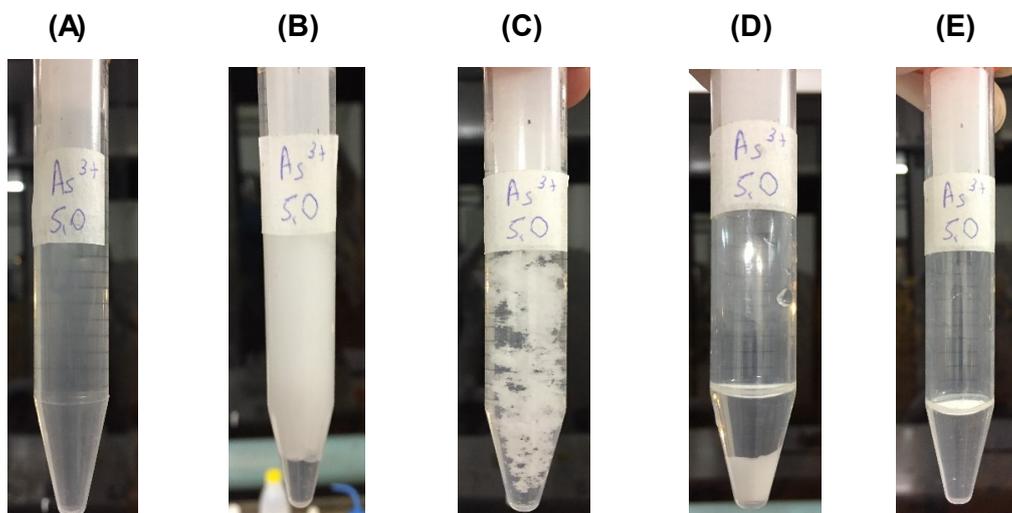


Fonte: O Autor

4.5.3. Procedimento ISQ_{AS}-SPE

O procedimento de extração e pré-concentração foi realizado em modo *off-line* em tubos de centrifuga de fundo cônico do tipo Falcon® com capacidade de volume de 15 mL. Para extração de As(III), foram adicionados 10,0 mL da solução padrão de As(III) 10,0 µg L⁻¹ ou amostra, contendo 0,038% (m/v) do agente complexante APDC, com valor de pH devidamente ajustado a 1,0 por acidificação com 1,0 mL de solução de HCl 1,0 mol L⁻¹. Em seguida, foram adicionados 0,90 mL da solução do agente transferidor de fase TBAB 0,2 mol L⁻¹. Após agitação manual, foram adicionadas 0,60 mL da solução do agente pareador iônico ClO₄⁻ 0,9 mol L⁻¹, e avolumados com água deionizada até 12,0 mL. No momento da adição da solução de ClO₄⁻, a turvação do meio é observada, resultante da precipitação e dispersão das micropartículas da fase sólida adsorvente formada (perclorato de tetra-*n*-butilamônio). A solução turva resultante foi submetida a agitação manual por 1 minuto para promover a extração e levada a centrifugação em 4000 rpm durante 20 minutos para a sedimentação da fase sólida no fundo do tubo de centrifuga. A fase aquosa sobrenadante foi descartada por simples inversão dos tubos, e a quantidade de solução remanescente foi cuidadosamente retirada com o auxílio de uma seringa. Após a separação da fase sólida sedimentada, foi adicionado 1,0 mL de HCl concentrado para a lixiviação da mesma, e a solução resultante foi levada ao sistema de determinação de As(III) por FI-HG AAS. As principais etapas do procedimento ISQ_{AS}-SPE estão ilustradas na Figura 15.

Figura 15. Ilustração das etapas do procedimento ISQ_{AS}-SPE. **(A)** Solução padrão de As ou amostra contendo complexante APDC e agente transferidor TBAB, **(B)** Adição da solução do agente pareador iônico ClO₄⁻, **(C)** Aglomeração das partículas do microssorvente para a extração do complexo As(PDC)₃ após a agitação manual, **(D)** Após a centrifugação e adição da solução lixiviadora HCl, **(E)** Solução resultante contendo As(III) pré-concentrado e pronto para ser levado ao sistema FI-HG AAS.



Fonte: O Autor

Para extração de As total, foram adicionados 10,0 mL de solução padrão de As $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, com a composição da mistura das espécies As(III) e As(V) ambas na concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$, contendo 0,5% (m/v) do pré-redutor cloridrato de hidroxilamina e 0,038% (m/v) do complexante APDC, devidamente ajustados a pH 1,0. Posteriormente foram adicionados os mesmos volumes das soluções de TBAB e ClO_4^- nas mesmas concentrações, seguindo as mesmas condições de execução das etapas sequenciais deste procedimento supracitadas anteriormente. No procedimento aplicado as amostras, foi utilizada a mesma alíquota (10,0 mL) da amostra digerida, levando em conta que os reagentes APDC, EDTA e cloridrato de hidroxilamina já foram adicionados previamente após a etapa de decomposição.

4.5.4. Otimização do método ISQ_{AS}-SPE FI-HG AAS

As variáveis que influenciam no procedimento de extração de pré-concentração de As(III) por ISQ_{AS}-SPE, foram otimizadas empregando ferramentas de otimização multivariada, baseando-se em planejamentos fatoriais e metodologia de superfície de resposta. Para o estudo do efeito do pH de extração e das variáveis associadas ao sistema de determinação FI-HG AAS, julgou-se pertinente o emprego do método univariado.

Inicialmente, foi utilizada solução padrão de As(III) na concentração de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Após verificar que o método apresenta potencialidade para extração e pré-concentração, e para evitar a saturação do sinal na detecção, passou a ser empregada a concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Para a otimização do método ISQ_{AS}-SPE, foram investigadas as seguintes variáveis: efeito do pH, concentração dos agentes complexante (APDC), transferidor de fase (TBAB), pareador iônico (ClO_4^-), tempo de extração e a força iônica do meio com adição do eletrólito KNO_3 . Os experimentos foram realizados a partir da construção de um planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} de resolução V, cujos os níveis investigados estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Variáveis e os respectivos níveis estudados no planejamento fatorial 2^{5-1} (V) para otimização do método ISQ_{AS}-SPE.

Variável	Nível inferior (-1)	Nível superior (+1)
Concentração APDC %(m/v)	0,0021	0,0083
Concentração TBAB (mol L ⁻¹)	0,0042	0,0083
Concentração ClO_4^- (mol L ⁻¹)	0,037	0,075
Tempo de extração (s)	5,0	300,0
Concentração KNO_3 %(m/v)	0,0	0,042

O efeito do pH sobre a extração, foi avaliado de forma univariada numa faixa considerada favorável para a complexação com APDC (pH 1,0 – 7,0). A faixa de pH básica não foi avaliada devido a possibilidade de ocorrer a hidrólise do As(III), e este ser precipitado na forma do óxido As_2O_3 (FILHO, 2016).

A partir dos resultados indicados na triagem pelo planejamento fatorial, foram construídas superfícies de respostas baseadas na modelagem por Planejamento Fatorial Composto com Ponto Central (CCD) do tipo 2^3 . Para obtenção das condições ótimas das variáveis exploradas, foram necessárias duas etapas de modelagem. As tabelas 10 e 11 apresentam respectivamente as variáveis e os níveis estudados para o primeiro e o segundo CCD.

Tabela 10. Variáveis e os respectivos níveis estudados na modelagem do primeiro CCD.

Nível	APDC %(m/v)	[TBAB] (mol L ⁻¹)	Tempo (s)
-1	0,0041	0,0021	15,0
+1	0,0120	0,0063	45,0
0 (P.C.)	0,0083	0,0042	30,0
-1,68	0,0017	0,0007	5,0
+1,68	0,0149	0,0077	55,0

Tabela 11. Variáveis e os respectivos níveis estudados na modelagem do segundo CCD.

Nível	APDC %(m/v)	[TBAB] (mol L ⁻¹)	Tempo (s)
-1	0,015	0,007	30,0
+1	0,045	0,014	90,0
0 (P.C.)	0,030	0,010	60,0
-1,68	0,005	0,004	9,0
+1,68	0,055	0,016	110,0

Todos os dados experimentais foram tratados empregando o software Statistica® 7.0 (StatSoft). A cada etapa de planejamento os resultados foram avaliados por Análise de Variância (ANOVA), para qualificação estatística do modelo obtido, que por sua vez indicará as condições ótimas, ou seja, para o máximo desempenho do procedimento ISQ_{AS}-SPE.

Já para o sistema de determinação de As(III) por FI-HG AAS (após ser extraído e pré-concentrado nas condições ótimas), as variáveis que afetam na geração *on-line* de hidretos foram otimizadas de forma univariada, nas seguintes condições: concentração do redutor NaBH_4 (0,10 – 1,50 % (m/v)), concentração do ácido HCl (0,0 – 4,0 mol L⁻¹), vazão da amostra

e redutor (1,5 – 45 mL min⁻¹), vazão do carreador (0,25 – 2,5 mL min⁻¹), vazão de drenagem (1,5 – 5,0 mL min⁻¹), volume de amostra injetado (41,7 – 333,3 µL) e comprimento da bobina reacional (15 – 100 cm).

4.5.5. Composição e solubilização do meio lixiviador

Visando aprimorar as condições da fase final da amostra pré-concentrada para uma melhor detectabilidade no sistema FI-HG AAS, foi avaliada a composição e a quantidade do meio lixiviador adicionado e a sua ação na solubilização da fase sólida sedimentada.

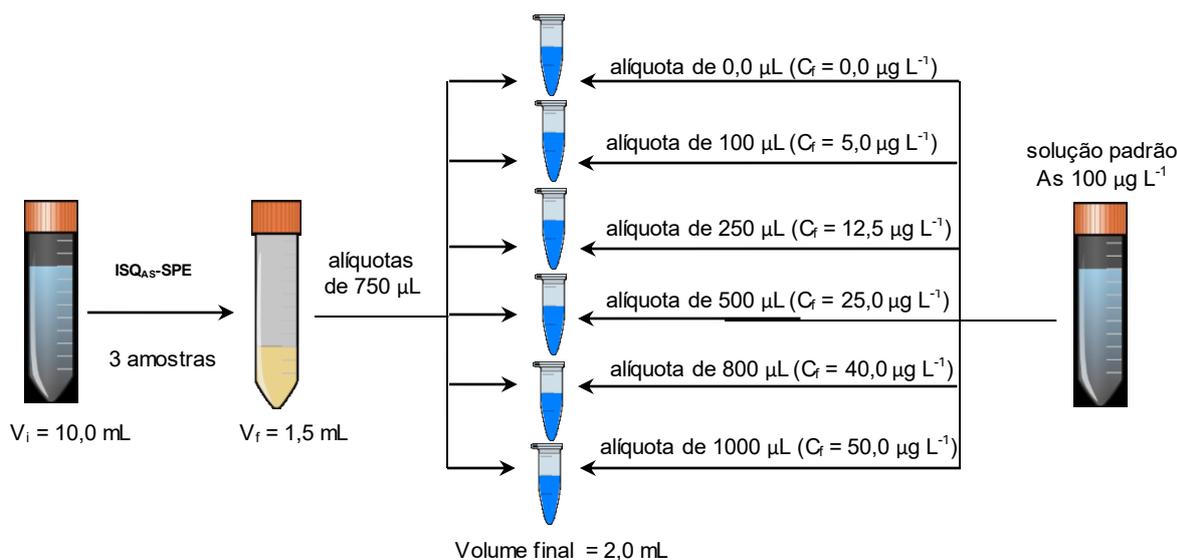
O meio lixiviador foi estudado em duas diferentes composições. A primeira, conforme mencionado anteriormente, em meio integralmente ácido (HCl P.A.), e a segunda composição em meio etanólico (HCl/etanol 1:1). Os volumes adicionados foram 1,0 mL para a primeira composição e 0,5 mL para a segunda composição.

Para potencializar a dissolução da fase sólida frente às duas composições do meio lixiviador, as amostras devidamente tratadas ao procedimento ISQ_{As}-SPE, foram submetidas ao banho de ultrassom durante 30 minutos. Foram obtidos resultados para as amostras com e sem a ação da radiação ultrassônica e foram comparados entre si.

4.5.6. Estudo da eficiência de extração do método

A fim de estimar os parâmetros associados a eficiência de extração e na recuperação do analito frente a aplicação do método, foi determinada a concentração de As(III) que foi extraída na fase final pré-concentrada. A determinação foi realizada mediante calibração por adição de padrão com fortificação de As(III) na faixa de 5,0 a 50,0 µg L⁻¹, de acordo com o esquema representado na Figura 16. O mesmo procedimento também foi realizado para a espécie As(V).

Os parâmetros estimados foram fator de enriquecimento, recuperação (eficiência de extração) e fator de transferência de fase.

Figura 16. Esquema representativo do procedimento de calibração por adição de padrão.

4.5.7. Determinação de Arsênio total

Para a determinação de As total, é necessário uma etapa de pré-redução para que a espécie As(V) presente seja quantitativamente reduzida e extraída juntamente com o As(III). Para esta finalidade, foram investigadas a eficiência de quatro agentes redutores: cloridrato de hidroxilamina, L-cisteína, tiouréia e KI em meio de ácido ascórbico (1:1). Para cada redutor, foram avaliadas as concentrações na faixa de 0,05 a 2,5% (m/v).

As soluções dos pré-redutores foram adicionados nas soluções padrão bem como nas amostras antes de serem submetidas ao procedimento ISQAS-SPE. Para observar algum provável efeito sobre o equilíbrio da fração de cada espécie de arsênio inorgânico disponível, os ensaios dos pré-redutores foram realizados em soluções padrão de arsênio inorgânico total, contendo uma mistura equimolar de $5,0 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie ($\text{As}^{3+} + \text{As}^{5+}$).

4.5.8. Estudo dos interferentes

Baseando nas principais substâncias que compõe a matriz das amostras de interesse, foram selecionados alguns concomitantes para que se pudesse avaliar sua ação interferente sobre As(III). Os concomitantes selecionados foram as espécies metiladas de arsênio MMA, DMA, os cátions metálicos Cd^{2+} , Mn^{2+} , selênio total e os ânions fosfato e silicato. Tal estudo foi realizado de forma multivariada, através de um planejamento fatorial fracionário 2^{7-3} de resolução IV.

Os níveis de concentração investigados para cada interferente estão apresentados na tabela 12. As concentrações de cada interferente foram selecionadas a partir de informações da literatura, de forma com que se pudesse representar as quantidades esperadas dos mesmos em uma situação real (JULIANO, 1985). Para o nível inferior foi considerada a ausência do referido interferente, fazendo com que cada ensaio leve em consideração somente os efeitos associados a presença simultânea dos mesmos, de acordo com a matriz do planejamento.

Tabela 12. Níveis de concentração associados aos interferentes para o planejamento fatorial fracionário 2^{7-3} (IV).

Concomitante	Nível inferior (-1) / ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Nível superior (+1) / ($\mu\text{g L}^{-1}$)
MMA	0,0	1,0
DMA	0,0	1,0
Cd ²⁺	0,0	10,0
Mn ²⁺	0,0	10,0
Se total	0,0	10,0
PO ₄ ³⁻	0,0	1000,0
SiO ₄ ⁴⁻	0,0	1000,0

Um concomitante é considerado interferente, quando provocar uma variação positiva ou negativa do sinal analítico maior do que 10%, e definido por meio do fator de interferência (FI), que pode ser determinado da seguinte forma (DEDINA, 1982):

$$FI = \frac{A'}{A}$$

do qual A' é o valor da absorvância relativa ao As(III) na presença do interferente e A é a absorvância de As(III) sem o referido interfereente.

4.5.9. Figuras de mérito e Aplicações analíticas

Uma vez otimizada as condições para extração, pré-concentração e determinação de As(III) e As total pelo método ISQ_{AS}-SPE FI-HG AAS, os parâmetros que caracterizam as aplicações analíticas do mesmo foram determinadas para validação. As principais figuras de mérito que compreendem essa avaliação são a faixa linear de trabalho, sensibilidade, limites de detecção e quantificação, fator de pré-concentração, precisão e exatidão.

A linearidade de um método assegura a relação de proporcionalidade direta entre o sinal analítico e a concentração do analito na faixa dinâmica de trabalho. Essa região é delimitada até o ponto em que a concentração do analito atinge o limite de linearidade, sem que nenhum outro fenômeno tenha impacto indesejável na resposta. Pode ser verificada a partir do coeficiente de determinação (R^2) da equação de regressão linear da curva de calibração (INMETRO, 2010).

A sensibilidade (m) por sua vez, é observada por meio da magnitude de variação da resposta, a medida em que se varia a concentração (C). Um método é mais sensível quando pequenas variações de concentração resultam em maior variação do sinal analítico (S) (INMETRO, 2010). É determinado através da inclinação da curva de calibração, sendo que métodos mais sensíveis apresentam calibrações com maior coeficiente angular (maior inclinação). Para uma calibração de equação $S = mC + b$, tem-se que:

$$m = \frac{dS}{dC}$$

O Limite de Detecção (LD) é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada e distinguida do ruído. Não pode ser exatamente quantificada sob as condições experimentais estabelecidas. Pode ser determinada pela equação a seguir (IUPAC, 2000):

$$LD = \frac{3 \times s_b}{m}$$

onde: s_b é o desvio padrão obtido a partir de 10 leituras consecutivas do branco da curva de calibração, quando submetido ao procedimento do método proposto e m a sensibilidade.

O Limite de Quantificação (LQ) é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser quantificada com nível de precisão e exatidão aceitável. Pode ser estimado como menor ponto da curva de calibração que se inclui na faixa linear de trabalho, e determinado por meio da seguinte equação (ANVISA, 2003):

$$LQ = \frac{10 \times s_b}{m}$$

onde: s_b é o desvio padrão obtido a partir de 10 leituras consecutivas do branco da curva de calibração, quando submetido ao procedimento do método proposto e m a sensibilidade.

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra, sendo considerado aceitável

uma faixa de tolerância de até 5 a 15% em termos de medição a nível traço. A precisão pode ser expressa como desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV), segundo a expressão (ANVISA, 2003):

$$CV (\%) = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$$

onde: s é o desvio padrão de uma determinada medida e \bar{X} é a concentração média da respectiva medida.

A exatidão é a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro, e relaciona-se com o erro absoluto de uma medida. A exatidão pode ser estimada pelo uso de material de referência certificado (CRM), pela comparação do método proposto com um método de referência ou através de ensaios de recuperação de adição do analito na matriz. Nesse último caso, uma recuperação ideal seria de 100%, mas flutuações dentro da faixa de 20% são consideradas aceitáveis para determinações a níveis traço. Para o cálculo da porcentagem de recuperação (Rec), é empregada a seguinte equação (INMETRO, 2010):

$$Rec (\%) = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$$

onde: C_1 é a concentração determinada na amostra adicionada, C_2 é a concentração determinada na amostra não adicionada e C_3 é a concentração obtida pela quantidade adicionada.

Em métodos envolvendo pré-concentração, o fator de enriquecimento é o critério mais utilizado para avaliação. É definido como a razão entre a concentração do analito na solução final após o procedimento de concentração e a concentração original. Em termos práticos, estimar o fator de enriquecimento não é tao simples e direto como essa definição, devido a concentração verdadeira do analito na fase pré-concentrada ser desconhecida (e por isso, o interesse em sua determinação por meio da calibração por adição de padrão, conforme informado no ítem 4.4.6). No entanto, uma aproximação útil que representa esse parâmetro é baseado no aumento da sensibilidade ao invés do aumento da concentração e é definido como fator de pré-concentração (FPC). Pode ser obtido pela seguinte equação (FANG, 1993):

$$FPC = \frac{m_{pc}}{m_0}$$

onde m_{pc} é a inclinação da curva de calibração obtida com a etapa de pré-concentração e m_0 é a inclinação da curva de calibração sem a etapa de pré-concentração.

Além dessas figuras de mérito, foram determinadas ainda alguns outros parâmetros que refletem a viabilidade do sistema de determinação FI-HG AAS, quanto a eficiência do sistema de fluxo em promover os critérios que se enquadram na classificação de uma técnica limpa e econômica:

A frequência analítica (f) foi determinada como o número de amostras analisadas em uma hora, sendo expressa como h^{-1} . A eficiência de concentração (EC) é definido como o produto do fator de pré-concentração pela frequência analítica, sendo que o valor obtido mostra o fator de pré-concentração encontrado pelo sistema durante um minuto. O valor de EC pode ser calculado da seguinte forma:

$$EC \text{ (min}^{-1}\text{)} = FPC \times \frac{f}{60}$$

O índice de consumo (IC) é definido como volume da amostra em mililitros que é consumido para encontrar um FPC unitário, podendo ser expresso pela seguinte equação:

$$IC \text{ (mL)} = \frac{V_s}{FPC}$$

onde V_s é o volume da amostra em mL, que foi submetida ao procedimento de pré-concentração. A quantidade de resíduo gerada a cada determinação também foi monitorada, sendo determinada através da razão da quantidade total obtido no frasco de drenagem ao final de um experimento (volume final do resíduo) pelo número de determinações realizadas.

Diante da validação do método frente a esses parâmetros, este foi então aplicado para determinação de As(III), As(V) e As total nas amostras de arroz após seu devido procedimento de preparo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta seção são apresentados e discutidos os resultados referentes aos ensaios de desenvolvimento do método de separação não-cromatográfica das espécies inorgânicas de arsênio. O fundamento do método se baseia na pré-concentração por extração seletiva em fase sólida micro-estruturada e *in-situ* por surfactantes derivados de sais de amônio quaternário (ISQ_{AS}-SPE). Para uma melhor disposição da sequência dos resultados, estes

foram divididos em três partes: A Parte I trata-se das discussões acerca das medidas de caracterização estrutural da fase sólida; a Parte II tratando especificadamente do contexto analítico para o desenvolvimento do método e a Parte III, sobre um estudo complementar com as espécies metiladas de arsênio e aplicação do método proposto.

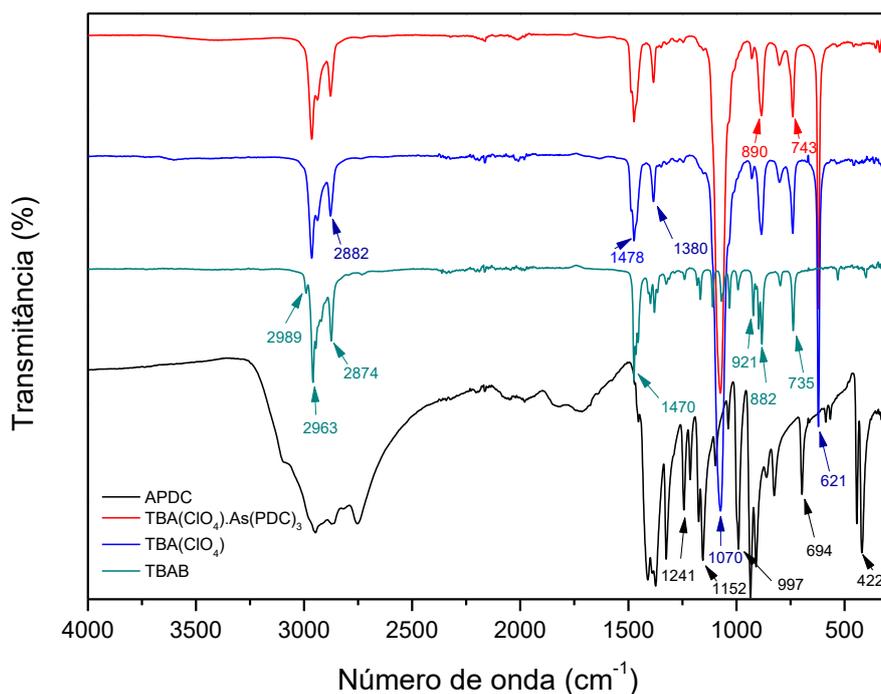
5.1. PARTE I: Caracterização físico-química da Fase Sólida Extratora

Todas as medidas de caracterização foram realizadas diretamente na fase sólida sedimentada, sem nenhum tratamento químico prévio. Soluções padrão de As(III), bem como soluções em branco foram submetidas ao procedimento ISQ_{AS}-SPE, e a fase sólida sedimentada foi isolada por filtração simples e deixada na capela de exaustão por um período de 12 a 24 horas até ser levada aos respectivos equipamentos.

5.1.1. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho (FT-IR)

Para elucidação dos grupos funcionais associados ao procedimento de extração, são apresentados na Figura 17, os espectros de absorção no infravermelho dos seguintes componentes: agente transferidor de fase (TBAB); agente complexante (APDC); fase sólida isolada constituída do sal perclorato de tetra-*n*-butilamônio [(TBA)ClO₄]; e a fase sólida contendo o complexo de arsênio provavelmente extraído [(TBA)ClO₄.As(PDC)₃].

Figura 17. Espectros de absorção no infravermelho médio com Transformada de Fourier (FT-IR) dos componentes moleculares envolvidos no procedimento ISQ_{AS}-SPE.



Os espectros que representam a constituição da fase sólida apresentam um perfil relativamente simples. Observa-se poucas bandas que são típicas de grupamentos alquila, que nesse caso são associadas às cadeias butílicas presentes na estrutura do agente transferidor de fase. Verifica-se também a ausência de bandas características de funções oxigenadas, geralmente compreendidas na região mediana do espectro (entre 3500 e 1400 cm^{-1}).

As bandas de intensidade moderada na região de 2800 a 2990 cm^{-1} correspondem ao estiramento das ligações C–H, do qual o carbono apresenta hibridização do tipo sp^3 . Para essas bandas, tem-se que em 2963 – 2989 cm^{-1} correspondem ao estiramento assimétrico do grupo $-\text{CH}_3$ terminal e 2874 – 2882 cm^{-1} para o estiramento simétrico dos grupos $(-\text{CH}_2-)$. Esta atribuição pode ser confirmada por meio da presença das bandas em 1380 cm^{-1} que representa a deformação angular fora do plano dos grupos metilênicos, que também são indicadas pelas deformações do tipo “balanço” observadas pelas bandas em 735 e 743 cm^{-1} , evidentes em cadeias carbônicas lineares (BARBOSA, 2007).

A banda em 1470 – 1478 cm^{-1} pode ser associada ao estiramento da ligação C–N, sendo que neste caso, o carbono pertence necessariamente a um grupo metileno, uma vez que essa frequência também é constantemente relacionado às deformações angulares simétricas no plano dos grupos $(-\text{CH}_2-)$. A banda intensa e fina em 1070 cm^{-1} pode ser melhor atribuída a ligação C–N, pois é característica de amins alifáticas tanto primárias, quanto secundárias e terciárias. A ausência de uma banda em 2200 – 1800 cm^{-1} , confirma o fato de se tratar de um sal de amônio quaternário (R_4N^+), pois a presença da mesma é atribuída ao estiramento da ligação H–NR₂ (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2006).

Para o espectro do agente complexante, a banda fina em 997 cm^{-1} é característica do estiramento da ligação C=S ressonante, em que o sistema eletrônico π pode estar deslocalizado entre os grupos de ligação C–S⁻ (694 cm^{-1}) e C=N (1412 e 1380 cm^{-1}), sugerindo um sítio de coordenação bidentada para a complexação com metais (NAKAMOTO, 2009; NAKAMOTO, 1997). A banda larga observada na região de 3300 até 2700 cm^{-1} é atribuída ao contração amônio, obtidos com a amostra em estado sólido. Essa banda coexiste em combinação com as bandas que caracterizam os estiramentos simétrico, assimétrico e também das deformações angulares da ligação H^+-NH_3 .

Ao comparar os espectros obtidos com a fase sólida isolada, e da fase sólida contendo o complexo $\text{As}(\text{PDC})_3$ adsorvido, observa-se que ambos foram idênticos, não apresentando nenhuma banda que pudesse ser atribuída a presença do complexo na superfície do material. Levando em consideração o fato de que a técnica FT-IR não apresenta alta sensibilidade em se tratando de aspectos analíticos, provavelmente as quantidades empregadas do complexante e do metal durante o procedimento de extração não foram suficientes para promover um sinal de absorção detectável frente a quantidade majoritária da fase sólida no

meio. Sugere-se ainda que o complexo apresente um momento dipolar resultante nulo, tornando-o inativo no infravermelho em decorrência da sua simetria.

5.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (MEV-EDXRFS)

A morfologia superficial das partículas sorventes de perclorato de tetra-*n*-butilamônio podem ser observadas através das imagens de micrografias apresentadas nas Figuras 18A-18L. As imagens representadas pelas Figuras 17A a 17G referem-se somente a fase sólida isolada, obtidas com o procedimento ISQ_{AS}-SPE em branco. Já nas Figuras 18H a 18L, tem-se as imagens referentes aos ensaios ISQ_{AS}-SPE com solução padrão de As(III), ou seja, da fase sólida contendo o complexo As(PDC)₃ adsorvido.

As imagens revelam que a fase sólida é um material de alta rugosidade, sendo uma característica desejável para uma boa capacidade adsorviva, pois diminuem a resistência à transferência de massa do complexo para os sítios ativos do adsorvente. Maiores ampliações indicam ainda que a fase sólida é constituída de partículas de dimensionamento micrométrico e irregular, sem contornos de delimitação definidos. Algumas partículas podem se manifestar isoladamente dispersas ou incorporadas fisicamente umas as outras. Tal característica pode ser um fator de contribuição para uma maior porosidade, uma vez que não há uma grande compactação na distribuição dessas micro-partículas.

Com relação as imagens do material juntamente com o complexo adsorvido (Figuras 18H – 18L), observa-se algumas pequenas regiões onde fragmentos de aspecto lamelar e com formato de espículas são acumulados na superfície das micro-partículas do sorvente. Esses fragmentos também são estruturalmente irregulares, e de menor dimensão quando comparados com as partículas da fase sólida, podendo apresentar até uma delimitação nanométrica. Tais fragmentos podem ser indicativos da adsorção do complexo.

O espectro EDX (Figura 19), indica que a superfície da fase sólida extratora, isolada do procedimento ISQ_{AS}-SPE em branco, é composta majoritariamente pelos elementos carbono (máximo de 95,80% em massa) e cloro (máximo de 5,95% em massa). Não foi detectado enxofre em nenhuma das regiões selecionadas, indicando que moléculas do agente complexante livre não são extraídas significativamente. Já os espectros EDX obtido para as micro-partículas contendo o complexo extraído* (Figura 20), apontam para regiões de detecção de arsênio na constituição da superfície do material, confirmando o fato de que a extração é baseada no mecanismo de adsorção. Essa conclusão reforça a hipótese associada aos espectros no infravermelho, dos quais não foram registados sinais atribuídos a formação do complexo sobre a fase sólida.

*As amostras necessitaram de fortificação com As(III) 1,0 mg L⁻¹ para que pudesse atingir o limite de detecção do EDXRFS (≈1,0% em massa).

Figura 18. Imagens de Micrografia Eletrônica de Varredura (MEV) das micro-partículas da fase sólida adsorvente, obtidas em magnificações de 500X, 1.000X, 5.000X, 10.000X, 50.000X e 80.000X.

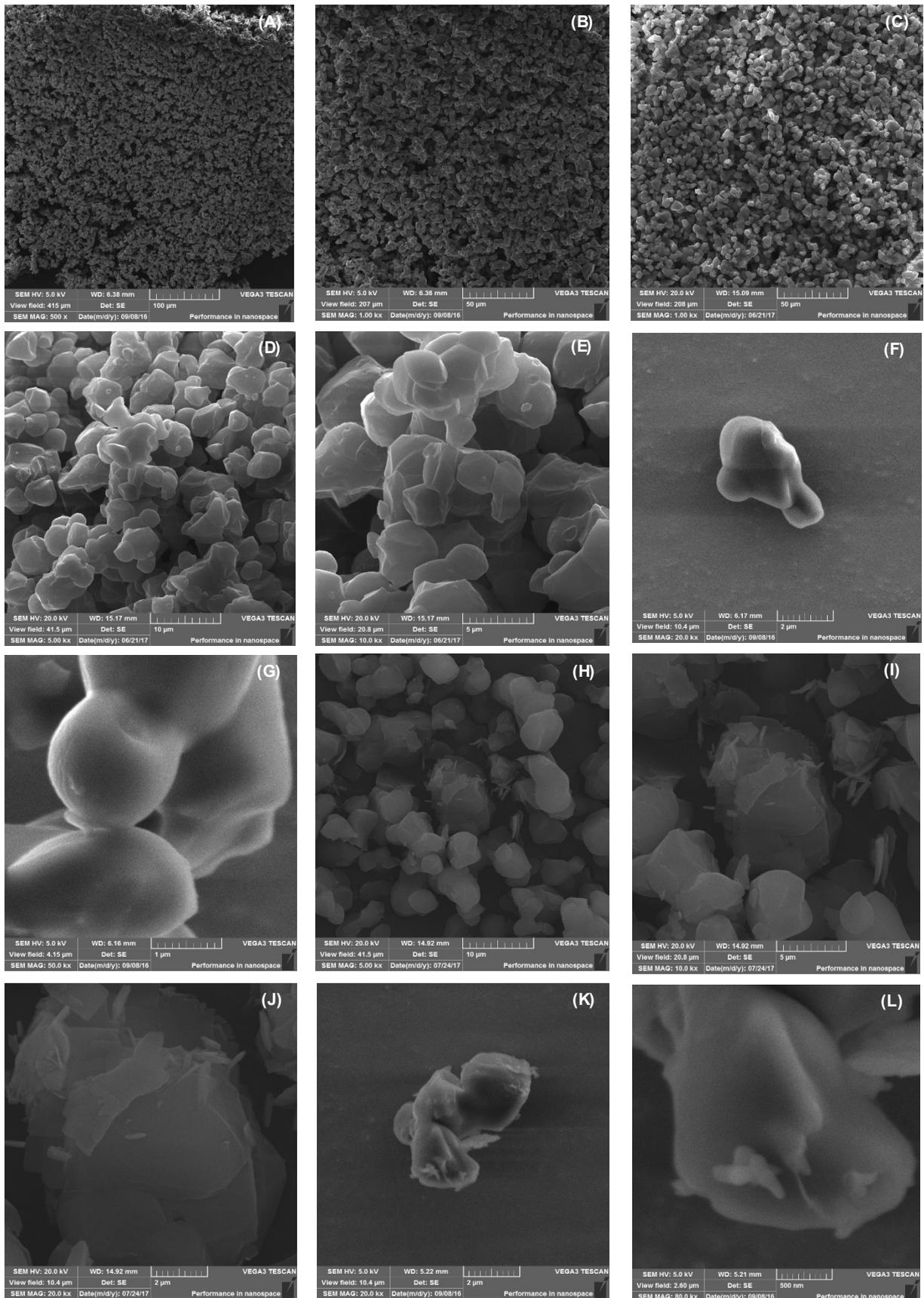


Figura 19. Espectro de Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) das regiões selecionadas das micro-partículas da fase sólida adsorvente isolada (ISQ_{As}-SPE em branco).

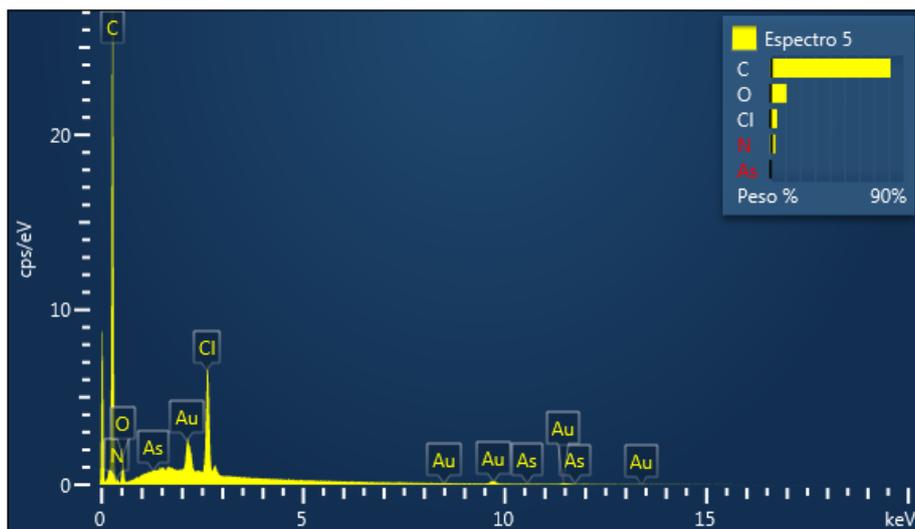
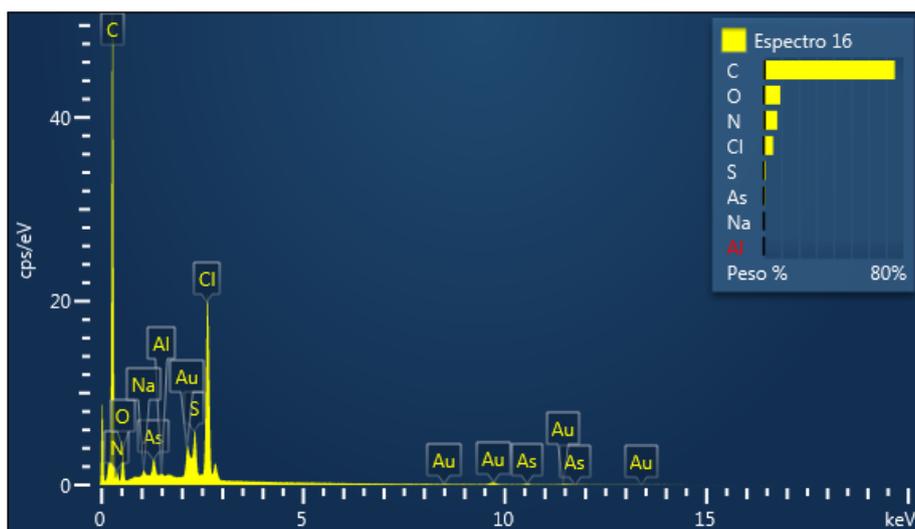


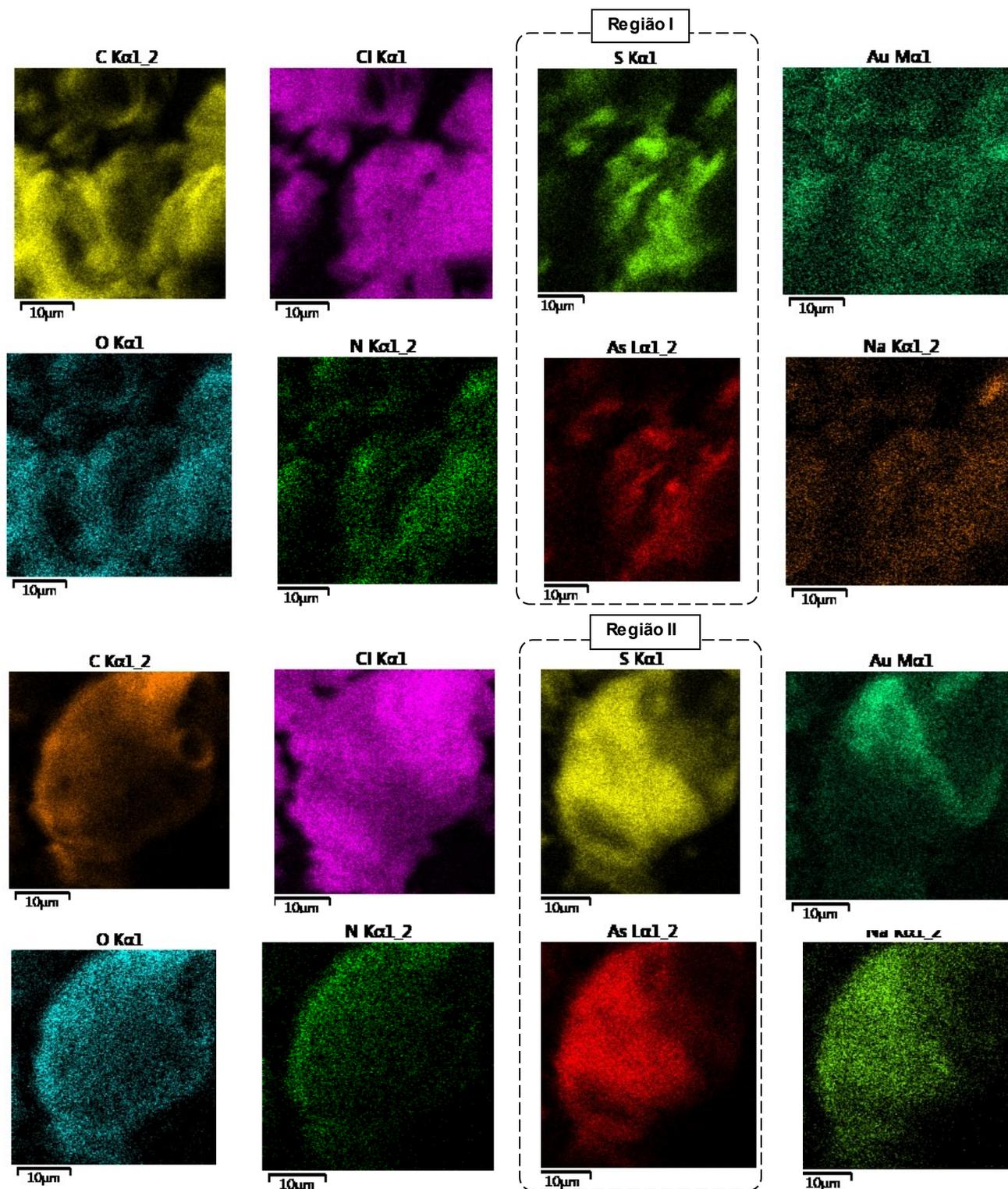
Figura 20. Espectros de Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) das regiões selecionadas das micro-partículas da fase sólida contendo o complexo As(PDC)₃ adsorvido.



Uma evidência da formação efetiva do complexo As(PDC)₃, é observada por meio dos mapeamentos de distribuição elementar (Figura 21). Os mapeamentos observados para os átomos de arsênio e enxofre apresentaram o mesmo padrão de distribuição em todas as regiões analisadas, confirmando o fato de que o grupo ditiocarbamato é o sítio quelante envolvido em uma coordenação bidentada com arsênio. Essa conclusão é concordante com as informações obtidas para o espectro no infravermelho do APDC.

Os mapeamentos indicam que a adsorção do complexo ocorre de forma heterogênea sobre a superfície das micro-partículas. De forma geral, os elementos se distribuem de forma segregada e em boa extensão, sem a determinação de uma fase definida. O controle de formação de uma fase com dimensões majoritariamente nanométricas, torna-se uma proposta que pode aprimorar a capacidade adsortiva desses sais de amônio quaternário.

Figura 21. Mapeamento de distribuição elementar dos átomos constituintes de duas regiões distintas do sistema sal-adsorvato TBA(ClO₄).As(PDC)₃.

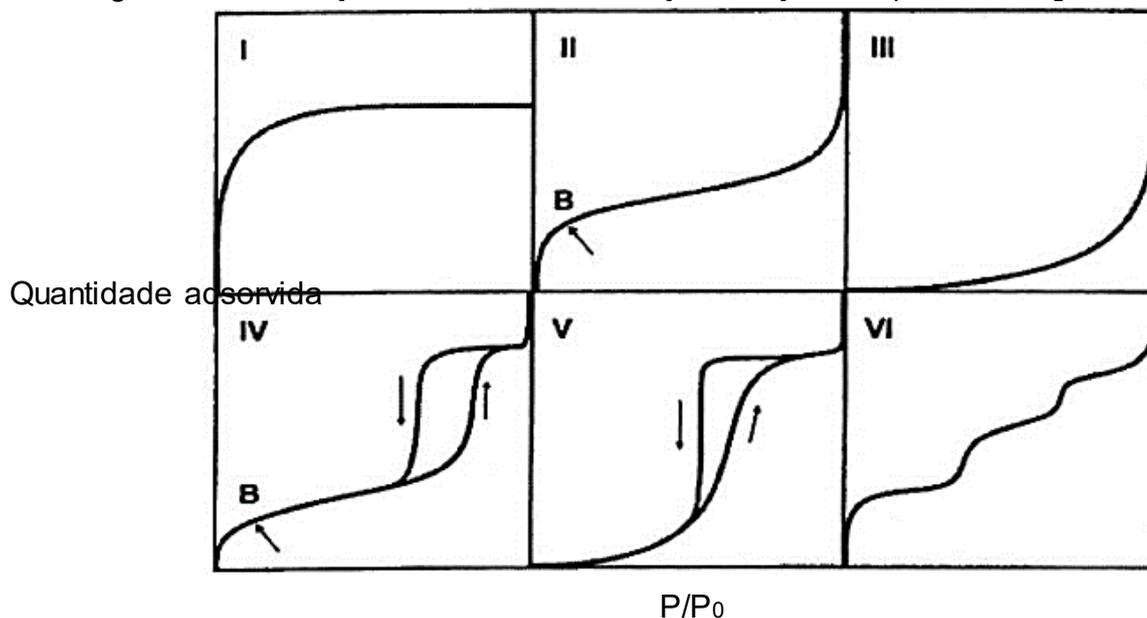


5.1.3. Área Superficial Específica (S_{BET})

A análise da área superficial da fase sólida extratora foi realizada a partir dos ensaios de adsorção/desorção de nitrogênio gasoso, empregando o método Brunauer-Emmet-Teller (BET). Esses ensaios foram realizados com o intuito de avaliar a relação entre a área e a massa da fase sólida formada na sedimentação. Além da área específica, o estudo do fenômeno de adsorção física de gases é feito com a finalidade de se obter informações sobre a estrutura porosa do material. Para tanto, tem-se a construção de uma isoterma de adsorção/desorção, do qual apresenta um formato que revela detalhes importantes sobre tais características (TEIXEIRA, COUTINHO e GOMES, 2001).

O formato gráfico das isotermas obtidas de um determinado material podem ser classificados de acordo com a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) em seis variações, dos quais são apresentados na Figura 22. A isoterma do tipo I é característica de sólidos com microporosidade, as do tipo II e IV respectivamente, são típicas de sólidos não porosos e/ou de sólidos com poros razoavelmente grandes. Nessa última, tem-se a ocorrência de condensação do gás no interior dos poros, resultando em uma histerese entre os ramos de adsorção e desorção. Já as isotermas do tipo III e V são características de sistemas onde as moléculas do gás (adsorvato), apresentam maior interação entre si do que com o sólido. Os dois últimos tipos (V e VI) não são de interesse para a análise de estruturas porosas. A isoterma do tipo VI é obtida através da adsorção do gás por um sólido não poroso, em uma superfície quase uniformemente lisa; ocorre com formação de multicamadas, em baixa pressão, o que representa um caso muito raro entre os materiais mais comuns (WEBB e ORR, 1997).

Figura 22. Classificação das isotermas de adsorção/desorção nos tipos I a VI, segundo IUPAC (1985).



O principal parâmetro dimensional que reflete o perfil das isotermas é o tamanho dos poros em função de seu diâmetro, que pode ser classificado de acordo com a IUPAC nas especificações da Tabela 13.

Tabela 13. Classificação dos poros de acordo com o diâmetro, segundo IUPAC (GREGG e SING, 1982).

Classificação	Diâmetro do poro (D - nm)
Microporoso	$D < 2$
Mesoporoso	$2 < D < 50$
Macroporoso	$D > 50$

A isoterma de adsorção/desorção BET obtida para a fase sólida extratora está apresentada na Figura 23. Os parâmetros de área superficial específica (S_{BET}), grau de porosidade (GPr), volume (V_p) e diâmetro médio ($D_{médio}$) dos poros, constam na Tabela 14.

Figura 23. Isoterma de adsorção e desorção de nitrogênio gasoso a 77K para a fase sólida extratora perclorato de tetra-*n*-butilamônio.

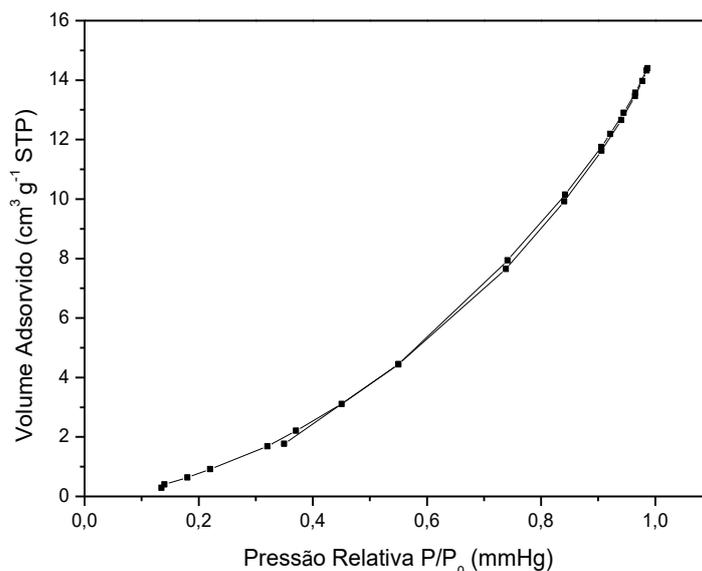


Tabela 14. Parâmetros morfológicos obtidos pela análise BET da fase sólida extratora.

Parâmetro	Sorvente extrator: TBA(CIO ₄)
S_{BET} (m ² g ⁻¹)	146,14
V_p (cm ³ g ⁻¹)	0,021
$D_{médio}$ (nm)	6,20
GPr* (%)	2,06

*O grau de porosidade (GPr) informado trata-se apenas de uma estimativa a partir da densidade ($d=1,07$ g cm³) do perclorato de tetrabutilamônio de grau eletroquímico (CAS Nº: 1923-70-2), calculado da seguinte forma: $GP = V_p / [1 + (V_p / d)] \times 100\%$ (BARRET, JOYNER e HALENDA, 1951).

A isoterma obtida da fase sólida extratora apresenta um perfil do tipo H3, com uma histerese muito estreita, indicando que a interação entre as moléculas do adsorvato é maior do que a sua interação com o adsorvente, e que a condensação de nitrogênio não ocorre em grande extensão ao ser adsorvido. Esse perfil também é característico de um agregado de partículas sólidas não rígidas, com formato de poros semelhantes a cunhas, placas paralelas ou do tipo cônicas (THOMMES, KANEKO, *et al.*, 2015). Essa observação é concordante com as demais conclusões obtidas por MEV-EDXRFs.

A fase sólida pode ser classificada como um material mesoporoso, sendo que esse dimensionamento de poro é o mais comumente caracterizado em sólidos com propriedades adsorptivas. Apesar que para a fase sólida tem-se um grau de porosidade não relevante, a estrutura do conjunto das micro-partículas associadas entre si apresentam interstícios que podem acomodar o complexo formado.

A alta área superficial é um parâmetro potencial para o emprego da fase sólida como material sorvente, uma vez que proporciona uma contribuição significativa na superfície de contato com o complexo. Esse parâmetro pode ser explicado mais em função da alta rugosidade, observando-se o material como um todo, do que pelo grau de porosidade das micropartículas, uma vez que apresentou um baixo valor, mas que é coerente com o perfil da isoterma obtida.

A Tabela 15 traz uma comparação da área superficial e diâmetro de poro para outros materiais adsorventes, empregados na finalidade de retenção de íons metálicos e substâncias moleculares. Percebe-se que o sal de amônio quaternário empregado neste trabalho apresenta resultados equivalentes e também com algumas vantagens em relação a maioria dos adsorventes reportados, sejam comerciais ou sintéticos como o hidróxido duplo lamelar (HDL), polímeros com impressão iônica (IIP), carvões ativados (BORGES, ARANTES, *et al.*, 2016) ou algumas zeólitas (BADILLO ALMARAZ, TROCELLIER e DÁVILA RANGEL, 2003), bem como os de origem natural como os biosorventes.

Tabela 15. Comparação dos parâmetros BET de outros materiais adsorventes aplicados em métodos de remoção ou extração por fase sólida.

Adsorvente	Adsorvato	S_{BET} ($m^2 g^{-1}$)	D_p (nm)	Referência
Sintético (HDL)	Fluoreto (F^-)	9,12	42	ROCHA, 2015
Sintético (IIP)	Complexo Pb^{2+} -PAN	22,48	22,44	BASAGLIA, 2016
Natural ^a	Fenóis, corantes, íons Cu^{2+} , Zn^{2+} e Cd^{2+} .	54,7	> 50,0	SIHEM, BENCHEIKH e MINIAI, 2012
Natural ^b	Mn(II)	0,651	52,88	CARMO, 2014
Natural ^c	Parationa metílica	3,64	3,48	CARDOSO, 2017

^a Derivados de produtos cereais; ^b Sementes de *Moringa oleifera in-natura*; ^c Fibra de coco *in-natura*.

Os adsorventes de origem natural, muitas vezes tratados como resíduos, dos quais podem ser reaproveitados, são de grande viabilidade e contribuem fortemente para o desenvolvimento sustentável. Entretanto, em condições *in-natura*, geralmente apresentam área superficial muito pequena, conforme pode ser observado pelos valores apresentados na tabela, necessitando muitas vezes de procedimentos de funcionalização ou modificações químicas da superfície, para uma melhor capacidade adsorptiva. Uma outra limitação se tratando dos adsorventes naturais, é que a reutilização em ciclos sucessivos de adsorção e desorção muitas vezes não é durável, alcançando uma rápida saturação na utilidade do material.

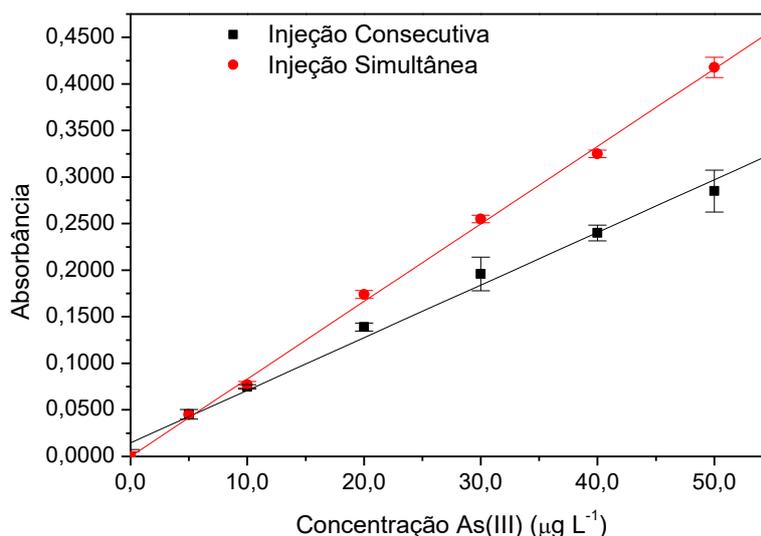
O sal de amônio quaternário adsorvente, por sua vez, é formado *in-situ* para logo após ser lixiviado, em que a grande maioria é levada para o meio de detecção HG AAS, que é destrutivo. Tem-se conseqüentemente formação de mínima quantidade de resíduo, além do gasto de quantidades praticamente estequiométricas, dos quais são concordantes com os princípios da Química Verde.

5.2. PARTE II: Desenvolvimento da Metodologia Analítica

5.2.1. Estudo preliminar do modo de injeção

A sensibilidade de determinação de arsênio foi testada inicialmente frente ao sistema FI-HG AAS de forma a verificar o efeito da injeção da amostra e dos reagentes, e assim estabelecer uma programação mais adequada de acionamento das válvulas. Este estudo compreendeu a comparação entre o modo de injeção consecutiva (sequencial) da amostra, redutor (NaBH_4) e carreador (HCl), bem como o modo de injeção simultânea da amostra juntamente com o redutor, seguida da injeção do carreador. As curvas de calibração obtidas para os modos de injeção são apresentados na Figura 24.

Figura 24. Curvas de calibração obtidas para o estudo dos modo de injeção consecutivo e simultâneo ($n=3$). Condições preliminares: $[\text{HCl}]$ $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, NaBH_4 $0,5\%$ (m/v), vazão $4,0 \text{ mL min}^{-1}$.



As equações de calibração e os coeficientes de determinação para o ajuste linear das curvas são apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16. Parâmetros de calibração obtidos para os modos de injeção estudados.

Modo de injeção	Equação de calibração	R^2
Consecutiva	$Abs = 0,0056 C_{As(III)} + 0,0145$	0,9943
Simultânea	$Abs = 0,0083 C_{As(III)} + 0,00005$	0,9992

O estudo aponta melhor sensibilidade, além de uma linearidade mais satisfatória para o modo de injeção simultânea, do que as que foram obtidas com o modo de injeção consecutiva. Quando a amostra e a solução do redutor são injetadas simultaneamente no

sistema, ocorre a formação de uma única zona na confluência que possibilita uma mistura mais efetiva na bobina reacional, com formação quantitativa do hidreto de arsênio. Já quando a amostra, o redutor e o carreador são injetados sequencialmente, a confluência recebe essas três zonas em momentos diferentes, o que não possibilita uma mistura tão eficiente. Entretanto, para a concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$, verificou-se que a variação do modo de injeção não afeta significativamente o sinal analítico, constituindo uma vantagem para o sistema.

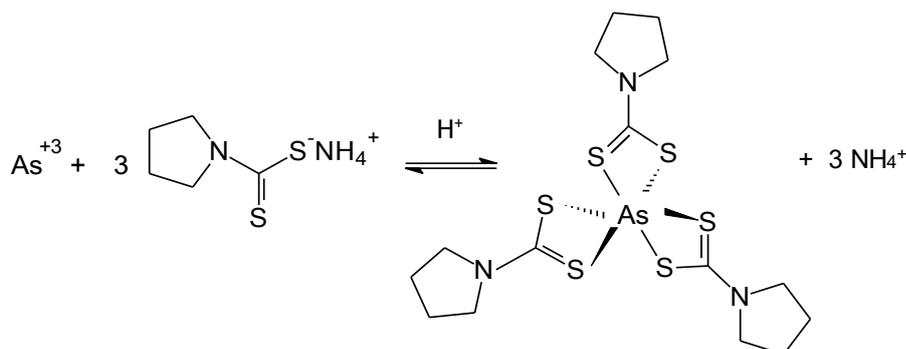
O modo de injeção simultânea por multicomutação é similar ao sistema de injeção em fluxo por zonas coalescentes, apropriando-se das vantagens de automação do sistema, com consumo de pequenos volumes das soluções e injeção de forma independente. Se tratando do sistema de injeção em fluxo por multicomutação, o modo simultâneo requereu apenas uma linha de solução carreadora, enquanto que no sistema tradicional de zonas coalescentes, são necessárias duas linhas (uma para a injeção da amostra e outra para o redutor) além do emprego de um injetor comutador manual. Neste caso, pode ocorrer maior dispersão da amostra e diluição do redutor, sendo que todas as linhas ficam dependentes da mesma alternância de posição do injetor. A multicomutação quando comparada com essas características, possibilita maior versatilidade para contornar essas limitações.

5.2.2. Otimização do método ISQ_{AS}-SPE na extração e pré-concentração de As(III)

5.2.2.1. Estudo do efeito do pH

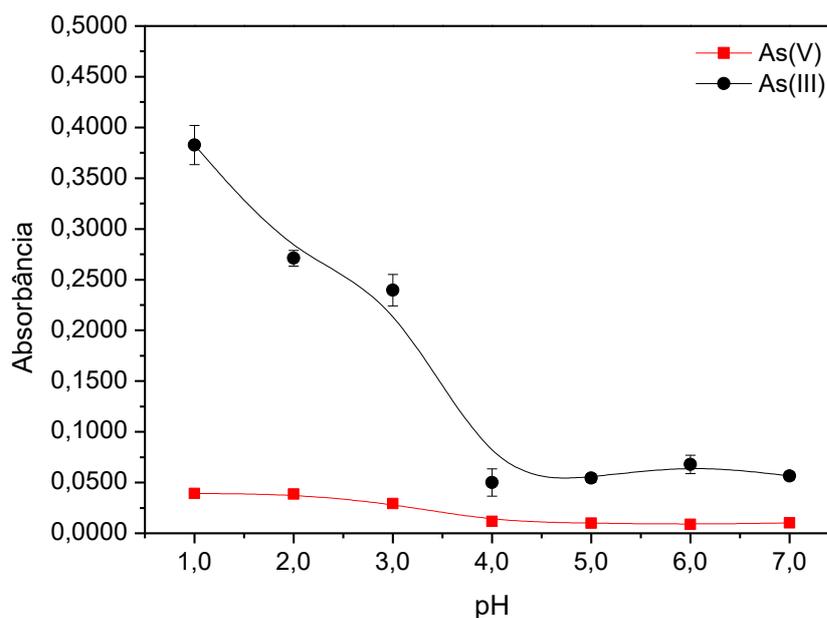
Para que o As(III) seja extraído pela fase sólida formada no meio, é necessário que este apresente polaridade compatível (hidrofobicidade) para que ocorra as interações necessárias para a extração. Para tanto, As(III) foi complexado com o agente quelante pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC), cuja estrutura é representada pela Figura 25, antes de ser submetido ao procedimento ISQ_{AS}-SPE.

Figura 25. Representação estrutural simplificada da formação do complexo As(PDC)₃.



A formação efetiva do complexo $\text{As}(\text{PDC})_3$ é altamente dependente do pH do meio. Logo foi estudada a influência do pH sobre a complexação, afim de garantir a formação de $\text{As}(\text{PDC})_3$ para então seguir com a otimização das demais variáveis referentes a extração do mesmo pelo método ISQ_{AS}-SPE. O efeito do pH sobre a formação do complexo é apresentado na Figura 26.

Figura 26. Efeito do pH sobre a complexação de As (III) com APDC, submetido ao método ISQ_{AS}-SPE. Condições Preliminares: $C_{\text{As(III)}}$ 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, APDC 0,0077% (m/v), [TBAB] 0,015 mol L^{-1} , $[\text{ClO}_4^-]$ 0,035 mol L^{-1} ; Sistema FI-HG AAS: [HCl] 1,0 mol L^{-1} , NaBH_4 0,5% (m/v), vazão 4,0 mL min^{-1} .



Pode-se verificar que a formação do complexo $\text{As}(\text{PDC})_3$ ocorre predominantemente na região de maior acidez, sugerindo a boa estabilidade do complexo em meio ácido. A protonação dos átomos de enxofre do ligante são eficientes na complexação, devida a alta afinidade que o grupamento tiol (-SH) apresenta com $\text{As}(\text{III})$.

Essa complexação pode ser considerada como um caso particular de uma interação ácido-base segundo a definição de Pearson. Nesta condição, o complexante é bastante polarizável (base mole) sendo um efeito que corrobora para o resultado obtido. Esse comportamento também pôde ser observado por Tarley e Silva *et al.*, dos quais empregaram agente quelante DDTP na complexação de cádmio e chumbo, sendo este um complexante que apresenta propriedades químicas e estruturais similares ao APDC (TARLEY, 2004; SILVA, FRESCURA e CURTIUS, 2000).

Foi selecionado pH 1,0 para os próximos ensaios, estando em concordância com outros resultados reportados na literatura, referente a alguns métodos que envolvem a complexação de $\text{As}(\text{III})$ com APDC (RIVAS, LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 2009; RABIEH, BAGHERI *et al.*, 2013). Para confirmar tais resultado, é apresentado na Figura 27 o gráfico de

distribuição das espécies do complexante APDC em função do pH. No pH escolhido, observa-se que 90,91% do ligante encontra-se na forma protonada ($pK_a = 2,0$), dispondo do grupo funcional $-SH$ para interagir com $As(III)$, que também neste pH se manifesta predominantemente sem carga elétrica como ácido arsenioso (Figura 28). O efeito da polarizabilidade entre o ligante protonado e o H_3AsO_3 é favorável para desencadear a formação de uma espécie intermediária $[As(OH_2)_3]^{3+}$ por transferência de próton, como uma das etapas do mecanismo da formação do quelato $As(PDC)_3$ (Figura 29), justificando o fato dessa complexação ocorrer em meio ácido.

Figura 27. Gráfico de distribuição das espécies do ligante pirrolidina ditiocarbamato (PDC) em função do pH, ilustrando a estrutura das espécies protonada (linha azul) e desprotonada (linha vermelha). Extraído de <https://chemicalize.com/#/calculation>. Acesso em 12/04/2017.

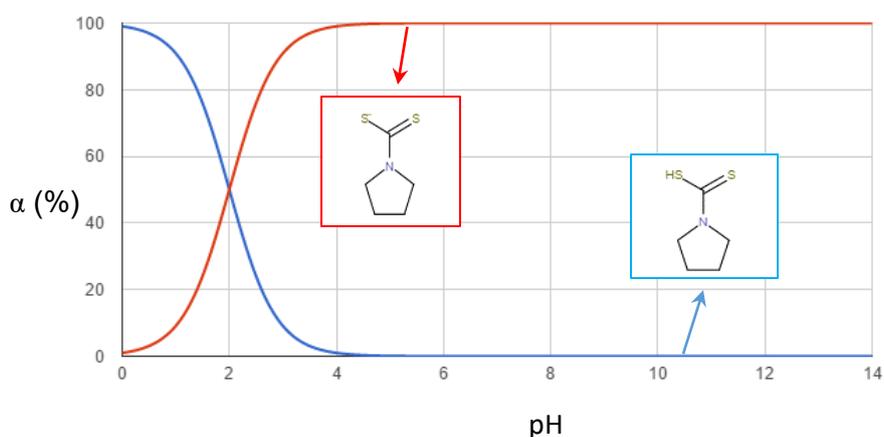


Figura 28. Gráfico de distribuição das espécies de arsenito $[As(III)]$ em função do pH, ilustrando a estrutura das espécies protonada (linha azul), parcialmente desprotonada (linha vermelha) e desprotonada (linha amarela). Extraído de <https://chemicalize.com/#/calculation>. Acesso em 12/04/2017.

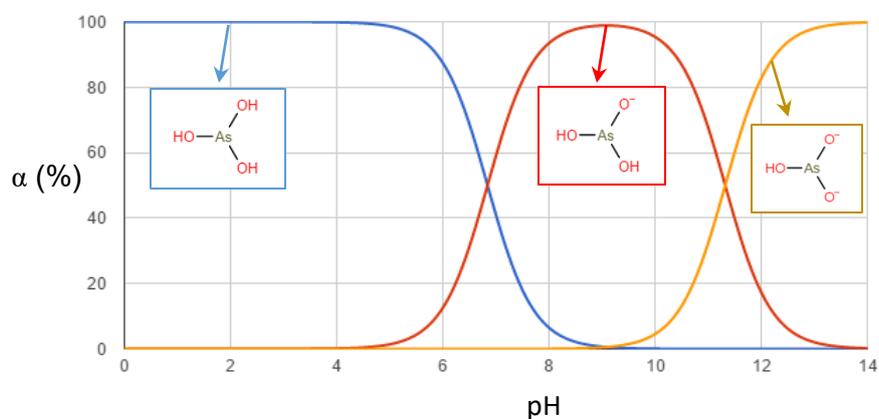
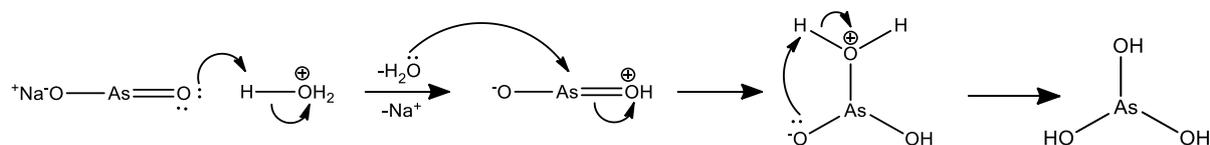
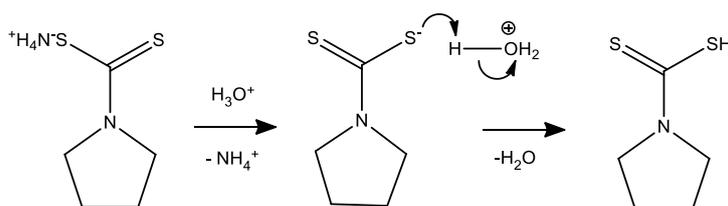
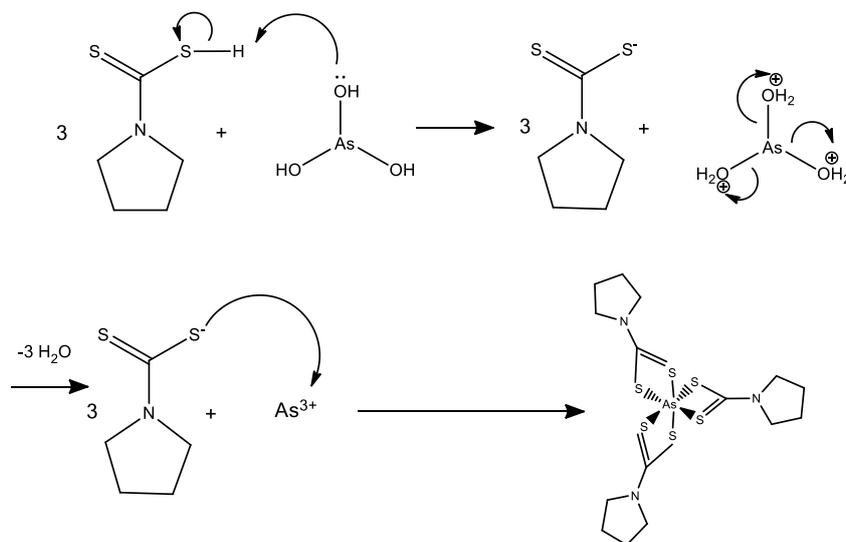


Figura 29. Proposta de mecanismo da formação do complexo $\text{As}(\text{PDC})_3$ em meio ácido.1) Hidrólise ácida do arsenito de sódio (NaAsO_2)

2) Dissociação e protonação do sal do agente complexante APDC.

3) Protonação do ácido arsenioso (H_3AsO_3) seguida de Complexação.

Observa-se também que o método apresenta potencial promissor para especificação química, uma vez que a espécie $\text{As}(\text{V})$ não complexa com APDC, e por isso não é extraída significativamente em toda a extensão de pH estudada. Além da boa seletividade, a concentração de NaBH_4 empregada no sistema não é suficiente para pré-reduzir $\text{As}(\text{V})$ à espécie trivalente. Geralmente é necessária uma concentração maior que 2% (m/v) para promover a redução a $\text{As}(\text{III})$ de forma que este seja convertido ao hidreto, e então ser detectado (COELHO, SILVA e SILVA, 2002).

5.2.2.2. Otimização do método de extração

As variáveis que influenciam na extração de As(III) após ser complexado com APDC, pelo método ISQ_{AS}-SPE foram investigadas, realizando uma triagem por meio de um planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹ de resolução V. Como o método se mostrou inicialmente promissor para efeito de pré-concentração, foram empregadas soluções de As(III) na concentração de 5,0 µg L⁻¹ a partir desse ensaio. A matriz do planejamento e os resultados observados nessa triagem são apresentadas na Tabela 17.

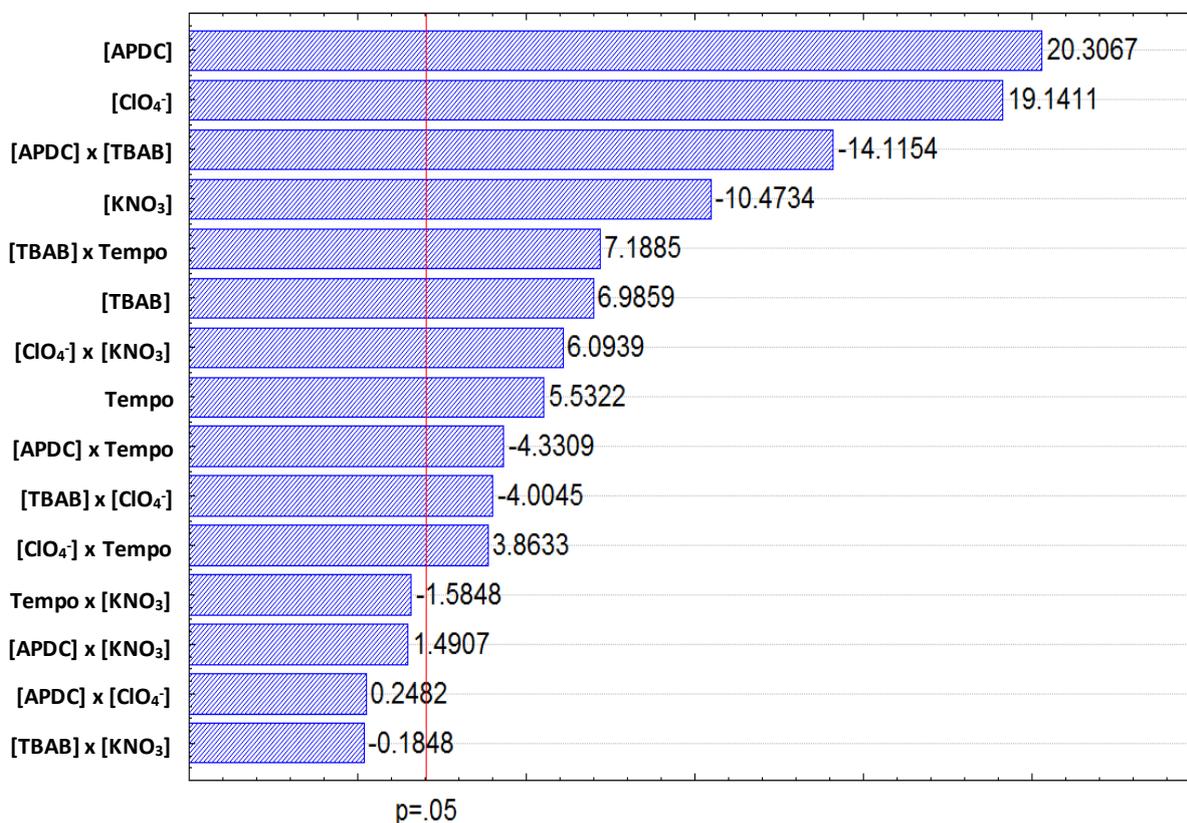
Tabela 17. Matriz do planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹(V) para triagem da extração de As(PDC)₃ por ISQ_{AS}-SPE.

Experimento	APDC %(m/v)	[TBAB] (mol L ⁻¹)	[ClO ₄] (mol L ⁻¹)	Tempo (s)	KNO ₃ %(m/v)	Absorbância Média (n=3)
1	- (0,0021)	- (0,0042)	- (0,037)	- (5)	+ (0,042)	0,1584±0,0023
2	+ (0,0083)	- (0,0042)	- (0,037)	- (5)	- (0,000)	0,3897±0,0143
3	- (0,0021)	+ (0,0083)	- (0,037)	- (5)	- (0,000)	0,3076±0,0198
4	+ (0,0083)	+ (0,0083)	- (0,037)	- (5)	+ (0,042)	0,2864±0,0064
5	- (0,0021)	- (0,0042)	+ (0,075)	- (5)	- (0,000)	0,2852±0,0058
6	+ (0,0083)	- (0,0042)	+ (0,075)	- (5)	+ (0,042)	0,4432±0,0143
7	- (0,0021)	+ (0,0083)	+ (0,075)	- (5)	+ (0,042)	0,3096±0,0080
8	+ (0,0083)	+ (0,0083)	+ (0,075)	- (5)	- (0,000)	0,3693±0,0277
9	- (0,0021)	- (0,0042)	- (0,037)	+ (300)	- (0,000)	0,2308±0,0259
10	+ (0,0083)	- (0,0042)	- (0,037)	+ (300)	+ (0,042)	0,2823±0,0030
11	- (0,0021)	+ (0,0083)	- (0,037)	+ (300)	+ (0,042)	0,2857±0,0034
12	+ (0,0083)	+ (0,0083)	- (0,037)	+ (300)	- (0,000)	0,3723±0,0093
13	- (0,0021)	- (0,0042)	+ (0,075)	+ (300)	+ (0,042)	0,2889±0,0171
14	+ (0,0083)	- (0,0042)	+ (0,075)	+ (300)	- (0,000)	0,4457±0,0233
15	- (0,0021)	+ (0,0083)	+ (0,075)	+ (300)	- (0,000)	0,4267±0,0170
16	+ (0,0083)	+ (0,0083)	+ (0,075)	+ (300)	+ (0,042)	0,4091±0,0033

Condição preliminar do sistema FI-HG AAS: [HCl] 1,0 mol L⁻¹, NaBH₄ 0,5% (m/v), vazão 4,0 mL min⁻¹. Absorbância média do padrão aquoso de As(III) 5,0 µg L⁻¹: 0,0415±0,0026.

Os efeitos principais bem como os efeitos de interação associados a cada uma das variáveis, foram avaliados com significância estatística ao nível de 95% de confiança ($p > 0,05$) e apresentados no gráfico de Pareto (Figura 33).

Figura 30 . Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados obtidos pelo planejamento fatorial fracionário $2^{5-1}(V)$.



O gráfico de Pareto mostra que todas as variáveis estudadas nessa triagem afetam significativamente na extração e pré-concentração de As(III) por ISQ_{AS}-SPE. Pode-se observar também a ocorrência de efeitos de interação significativos, indicando que a otimização multivariada torna-se mais adequada do que a avaliação individual das variáveis (modo univariado).

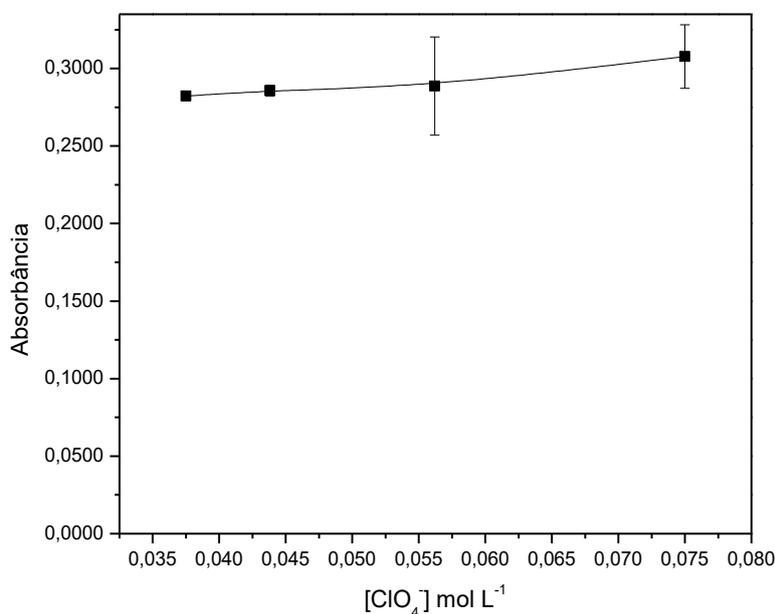
A variável que apresentou maior efeito significativo, foi a concentração do agente complexante APDC. O efeito positivo dessa variável indica que a extração de As(III) é favorecida no nível de maior concentração. Maiores concentrações de complexante são necessárias para promover uma complexação quantitativa, implicando no aumento da sensibilidade. Contudo, essa maior concentração de APDC deve ser monitorada para evitar o excesso do ligante livre, que pode competir com o complexo nos sítios ativos de adsorção da fase sólida ou estar disponível para complexar outros metais. Estes metais podem estar presentes concomitantemente na amostra e atuar como interferentes na determinação.

A concentração do agente pareador iônico $[\text{ClO}_4^-]$ também exerceu grande influência na extração, indicando que melhores resultados são obtidos com maior concentração do íon perclorato. A quantidade da fase sólida extratora formada é diretamente proporcional a concentração do agente pareador iônico, logo maior concentração de perclorato é requerida para formação de quantidade suficiente da fase sólida para promover a extração. Desta forma, a fase sólida contendo $\text{As}(\text{PDC})_3$ pré-concentrado pode ser acumulada satisfatoriamente após a centrifugação.

Foi notado que em alguns ensaios correspondentes ao nível inferior da concentração do íon perclorato, houve pouca formação da fase sólida, e seu acúmulo foi comprometido ficando boa parte dispersa e aderida nas paredes internas do tubo de centrifuga. Essa dispersão dificultou a lixiviação com ácido clorídrico, ocasionando baixa precisão das medidas. Por outro lado, se concentrações ainda maiores do agente pareador iônico fossem investigadas, conseqüentemente iria provocar a formação de quantidade ainda maior da fase sólida extratora, o que requereria maiores volumes da solução de HCl para lixiviar o complexo extraído, além do excesso de íons ClO_4^- poderem atuar como oxidante sobre $\text{As}(\text{III})$. A grande diluição ocasionada pela necessidade de maiores volumes de HCl, afeta drasticamente o fator de pré-concentração.

Devido a tais fatos, teve-se o interesse de investigar de forma univariada o intervalo de concentração de perclorato entre os níveis estipulados no planejamento fatorial (Figura 31). Esse refinamento foi realizado, afim de fixar a concentração de ClO_4^- e obter uma estimativa de outras prováveis condições que pudessem colaborar na superação de algumas limitações físicas que estavam sendo responsáveis pela perda da precisão dos resultados, tais como a falta da repetibilidade na sedimentação e a solubilização incompleta da fase sólida após a adição da solução lixiviadora de HCl.

Figura 31. Estudo complementar de variação da concentração do agente pareador iônico ClO_4^- . Condição preliminar do sistema FI-HG AAS: $[\text{HCl}]$ $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, NaBH_4 0,5% (m/v), vazão $4,0 \text{ mL min}^{-1}$.



Os resultados indicam que não há uma variação muito significativa entre as concentrações de perclorato dentro desse intervalo, com ligeiro aumento de sinal para a concentração escolhida no planejamento fatorial. Entretanto devido a maiores flutuações observadas nessas condições, decidiu-se fixar a concentração de ClO_4^- para $0,044 \text{ mol L}^{-1}$, pois além da melhor precisão, proporciona um menor volume final, valorizando o fator de pré-concentração.

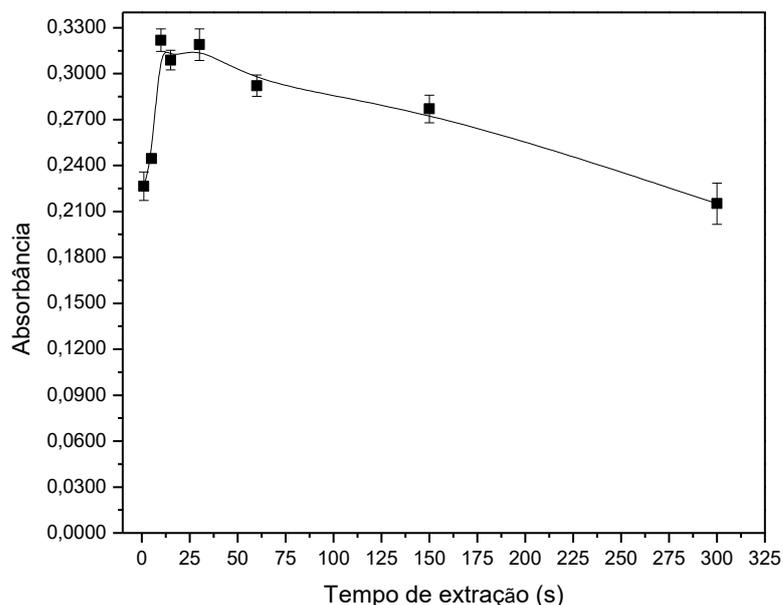
Uma das informações importantes obtidas pela otimização multivariada é a estimativa dos efeitos de interação entre as variáveis. Pode-se observar que a interação entre a concentração do agente complexante APDC e o agente transferidor de fase TBAB apresentou efeito significativo negativo. Isso quer dizer que essas duas variáveis agindo conjuntamente nos respectivos níveis indicados pelo gráfico de Pareto, a extração de As(III) não é favorecida. Nessas condições as variáveis são antagônicas, então provavelmente a extração poderá ser melhorada com a inversão do nível de uma dessas variáveis.

Como a concentração do complexante é predominantemente significativa sobre os demais efeitos, então sugere-se que uma menor concentração de TBAB pode aumentar a taxa de extração, apesar do respectivo efeito principal apontar para o nível de maior concentração. Essa ideia é reforçada também pelo efeito de interação não tão significativo entre $[\text{TBAB}]$ e $[\text{ClO}_4^-]$. Uma provável explicação para essa ideia, seria tratar o íon TBA^+ como o reagente limitante da formação da fase sólida, e o excesso de íons ClO_4^- poderia afetar no estado de oxidação do As(III) . Uma outra proposta seria considerar que na condição do excesso de íons TBA^+ , este possa assumir um arranjo coacervado, semelhante a surfactantes interferindo nas propriedades do meio, bem como no equilíbrio de formação da fase sólida.

O efeito da força iônica sobre a extração foi investigado pela adição da solução do eletrólito KNO_3 0,042% (m/v). O efeito principal dessa solução predomina sobre os efeitos de interação que a envolvem, sendo significativo e com sinal negativo. Logo a extração de As(III) é favorecida na ausência dessa solução. A adição do eletrólito pode influenciar na solubilidade do complexo e da fase sólida extratora pelo fenômeno *salting-out*, induzindo a interação entre as cadeias butílicas. Como a eficiência de extração não foi significativa nessa condição, provavelmente os íons nitrato estejam atuando como uma barreira sobre o perclorato na formação da fase sólida, ou tornando a espécie As(III) mais susceptível a oxidação pela sua ação em meio ácido. Logo, não foi adicionada solução do eletrólito nos próximos ensaios.

Foi realizado também um estudo preliminar univariado a fim de se verificar a possibilidade de reduzir o tempo de extração no intuito de facilitar o procedimento, com a minimização desta etapa. A variação do tempo de extração corresponde ao intervalo de tempo em que a mistura permanece em agitação, logo após a adição da solução do agente pareador iônico até o início da centrifugação. Os resultados obtidos por esses estudos complementares estão apresentados na Figura 32.

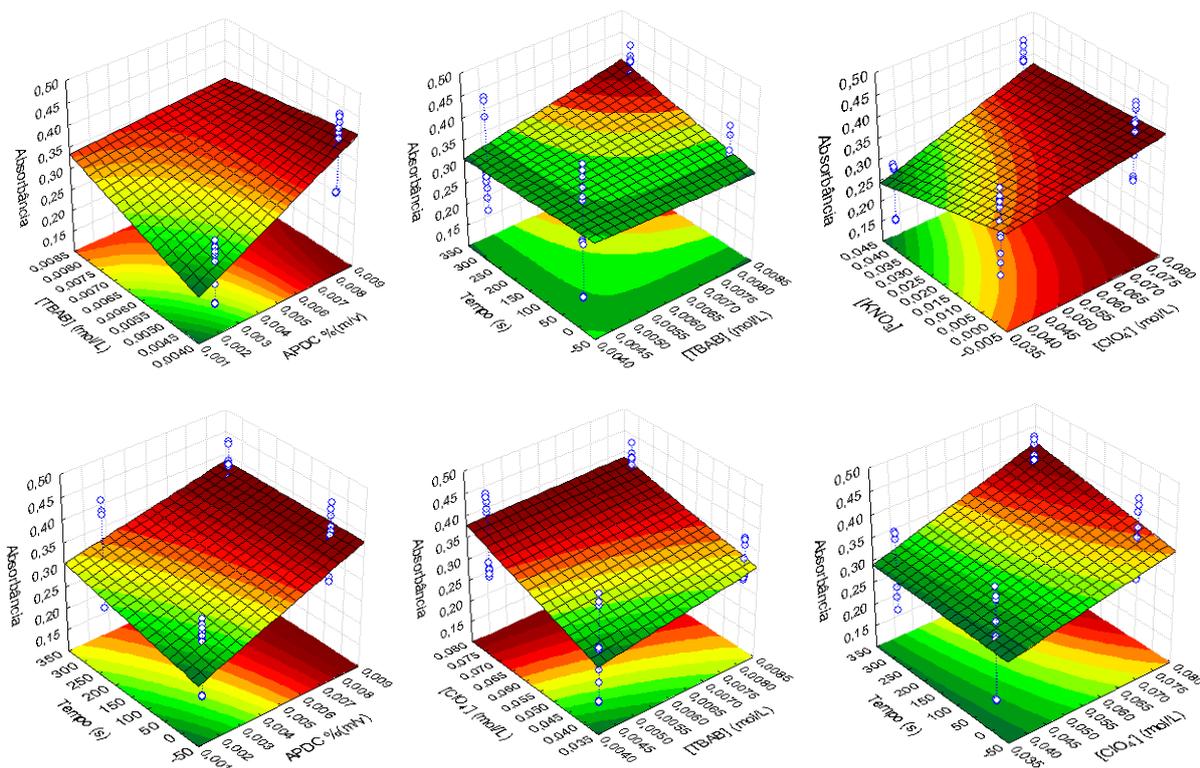
Figura 32. Estudo complementar de variação do tempo de extração. Condição preliminar do sistema FI-HG AAS: [HCl] 1,0 mol L⁻¹, NaBH₄ 0,5% (m/v), vazão 4,0 mL min⁻¹.



Os resultados de variação do tempo de extração mostram que o intervalo entre 10,0 e 30,0 segundos já se mostram suficientes para recuperações satisfatórias. Levando em consideração os efeitos de interação apontados pelo planejamento fatorial, esse intervalo pode ainda ser melhor explorado, uma vez que a interação entre a concentração do agente transferidor de fase TBAB e o tempo de extração também foi significativa e com efeito positivo, indicando que a ação conjunta dessas variáveis nos níveis correspondentes do gráfico de Pareto atuam sinergicamente a favor da extração de As(III).

A triagem realizada pelo planejamento fatorial traz uma orientação no domínio experimental das variáveis investigadas para as condições favoráveis a extração de As(III) por ISQ_{As}-SPE. Essas condições são melhor representadas por meio das superfícies de repostas, e do diagrama dos efeitos marginais dos quais estão apresentadas respectivamente nas Figuras 33 e 34. O modelo resultante apresentou ajuste máximo de 97,61% de variação explicada de acordo com o teste de Análise de Variância (ANOVA) aplicado (Tabela 18).

O teste ANOVA mostra que o planejamento fatorial fracionário pode ser representativo do conjunto total dos experimentos frente às demais combinações dos fatores, sendo considerado uma grande vantagem na economia de reagentes e na demanda de tempo. O fracionamento do planejamento fatorial se mostra viável graças as estimativa dos pares de aliases, em que os efeitos confundidos estão associados com as interações de ordem alta, que muitas vezes não afetam significativamente a resposta (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2007).

Figura 33. Superfícies de resposta dos efeitos de interação significativos referente ao modelo obtido pelo planejamento fatorial.**Tabela 18.** Análise de Variância referente ao modelo obtido pelo planejamento fatorial.

Fator	SQ	GL	MQ	F _{calculado}	p-valor
APDC	0,093179	1	0,093179	412,3633	0,000000
[TBAB]	0,011028	1	0,011028	48,8030	0,000000
[ClO ₄ ⁻]	0,082788	1	0,082788	366,3799	0,000000
Tempo	0,006916	1	0,006916	30,6050	0,000004
[KNO ₃]	0,024786	1	0,024786	109,6911	0,000000
APDC x [TBAB]	0,045022	1	0,045022	199,2439	0,000000
APDC x [ClO ₄ ⁻]	0,000014	1	0,000014	0,0616	0,805557
APDC x Tempo	0,004238	1	0,004238	18,7573	0,000137
APDC x [KNO ₃]	0,000502	1	0,000502	2,2222	0,145831
[TBAB] x [ClO ₄ ⁻]	0,003624	1	0,003624	16,0360	0,000346
[TBAB] x Tempo	0,011677	1	0,011677	51,6748	0,000000
[TBAB] x [KNO ₃]	0,000008	1	0,000008	0,0342	0,854523
[ClO ₄ ⁻] x Tempo	0,003373	1	0,003373	14,9255	0,000513
[ClO ₄ ⁻] x [KNO ₃]	0,008391	1	0,008391	37,1355	0,000001
Tempo x [KNO ₃]	0,000568	1	0,000568	2,5116	0,122845
Erro (resíduo)	0,007231	32	0,000226		
Total	0,303343	47			

$$F_{\text{calculado}} = \frac{MQ_{\text{fator}}}{MQ_{\text{erro}}}$$

$$F_{\text{crítico}} \approx 4,1$$

$$\% \text{ de variação explicada} = \frac{(SQ_{\text{total}} - SQ_{\text{erro}})}{SQ_{\text{total}}} 100$$

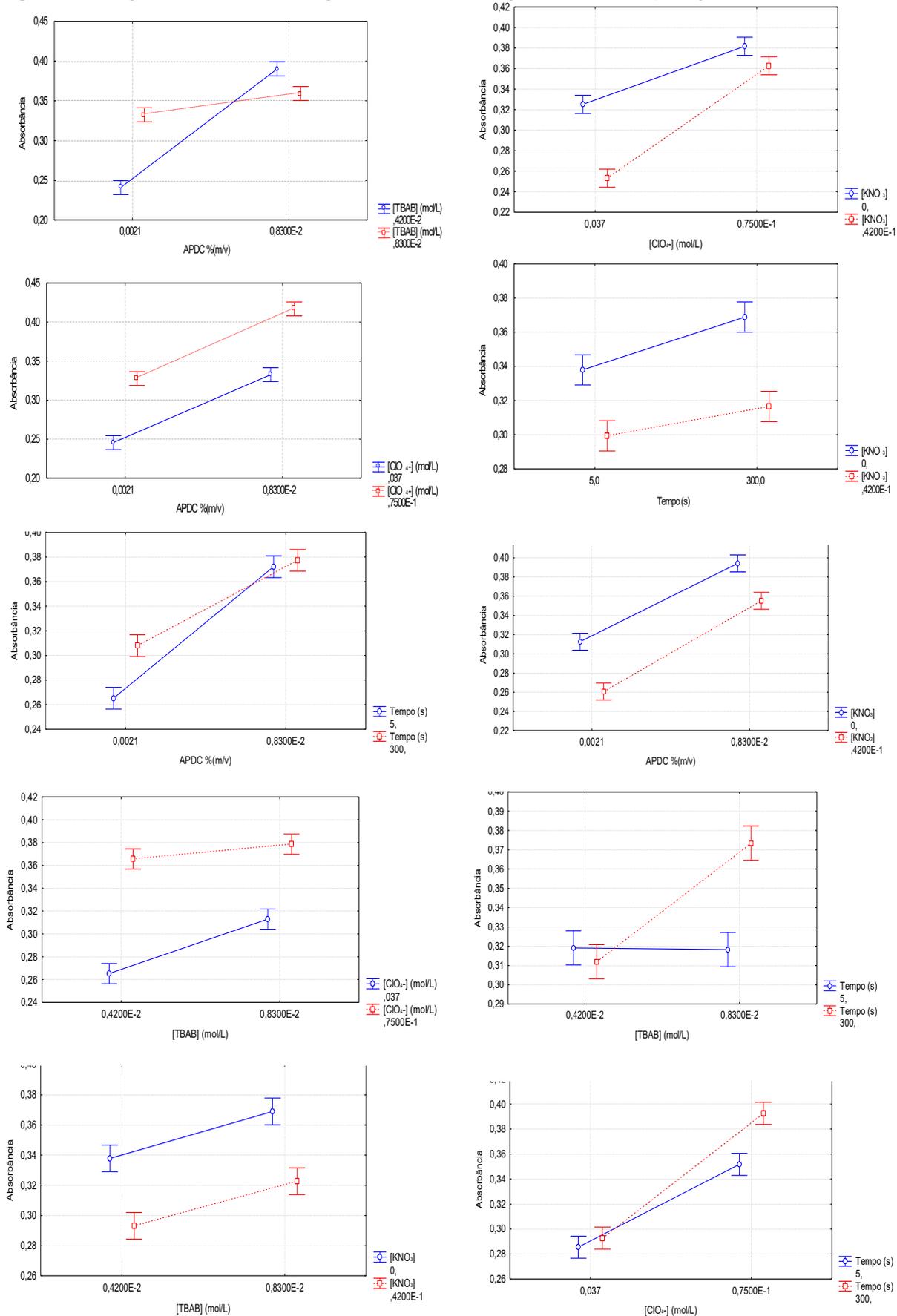
SQ: Soma Quadrática

GL: Graus de Liberdade

MQ: Média Quadrática

p-valor: Probabilidade do efeito ser enquadrado na hipótese nula (H_0).

Figura 34. Diagrama dos efeitos marginais de cada interação avaliada no planejamento fatorial.



A partir dessas informações, foram realizados ensaios a fim de indicar o ponto ótimo da extração. Este ponto pode ser obtido através de uma modelagem não linear como o Planejamento Fatorial Composto com Ponto Central (CCD), do qual a região do domínio experimental investigado inicialmente, baseado nos efeitos de interação, é modelado por meio de uma superfície de resposta descrita por uma função quadrática, e deslocado até que se obtenha o ponto ótimo desejado. Dessa forma, as condições experimentais do planejamento composto central com os respectivos resultados obtidos são apresentados na Tabela 19.

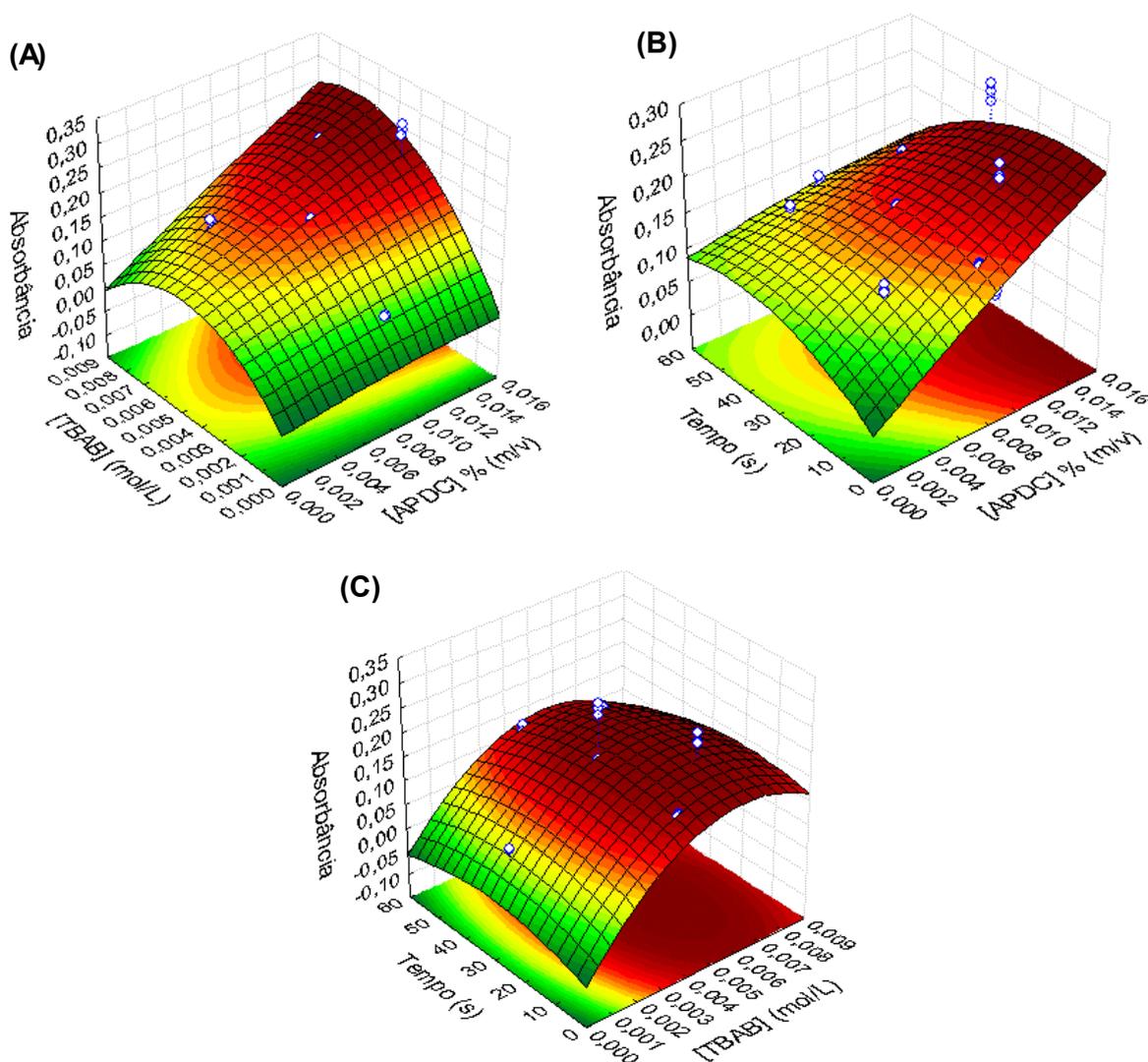
Tabela 19. Matriz do Planejamento CCD para a otimização das condições experimentais de extração de As(III) por ISQ_{AS}-SPE.

Experimento	APDC %(m/v)	[TBAB] (mol L ⁻¹)	Tempo (s)	Absorbância Média (n=3)
1	- (0,0041)	- (0,0021)	- (15)	0,0640±0,0028
2	- (0,0041)	- (0,0021)	+ (45)	0,0643±0,0026
3	- (0,0041)	+ (0,0063)	- (15)	0,1360±0,0059
4	- (0,0041)	+ (0,0063)	+ (45)	0,1645±0,0018
5	+ (0,0120)	- (0,0021)	- (15)	0,0566±0,0027
6	+ (0,0120)	- (0,0021)	+ (45)	0,0563±0,0030
7	+ (0,0120)	+ (0,0063)	- (15)	0,2256±0,0114
8	+ (0,0120)	+ (0,0063)	+ (45)	0,1699±0,0051
9	-1,68 (0,0017)	0 (0,0042)	0 (30)	0,0653±0,0101
10	+1,68 (0,0149)	0 (0,0042)	0 (30)	0,2731±0,0124
11	0 (0,0083)	-1,68 (0,0007)	0 (30)	0,0689±0,0018
12	0 (0,0083)	+1,68 (0,0077)	0 (30)	0,1434±0,0072
13	0 (0,0083)	0 (0,0042)	-1,68 (5,0)	0,1614±0,0019
14	0 (0,0083)	0 (0,0042)	+1,68 (55)	0,1379±0,0071
15 (P.C.)	0 (0,0083)	0 (0,0042)	0 (30)	0,1661±0,0020
16 (P.C.)	0 (0,0083)	0 (0,0042)	0 (30)	0,1628±0,0014
17 (P.C.)	0 (0,0083)	0 (0,0042)	0 (30)	0,1711±0,0010

Condição preliminar do sistema FI-HG AAS: [HCl] 1,0 mol L⁻¹, NaBH₄ 0,5% (m/v), vazão 4,0 mL min⁻¹. Absorbância média do padrão aquoso de As(III) 5,0 µg L⁻¹: 0,0337±0,0023.

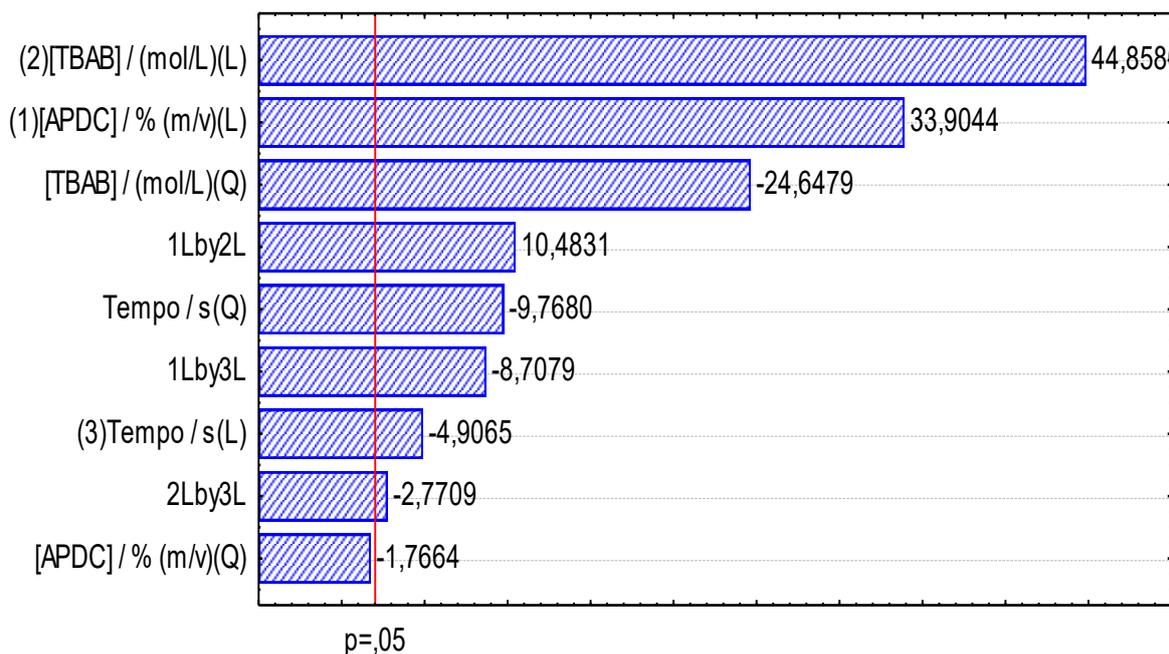
As superfícies de respostas obtidas por esse planejamento fatorial composto com ponto central estão representadas pelas Figuras 35A, 35B e 35C a seguir:

Figura 35. Superfícies de resposta obtidos pelo planejamento CCD. **(A)** APDC x [TBAB], mantendo tempo constante; **(B)** APDC x tempo, mantendo [TBAB] constante; **(C)** [TBAB] x tempo, mantendo [APDC] constante.



Aplicando o critério de Lagrange para essa modelagem, percebe-se que não há indicação de um ponto de maximização do sinal analítico, uma vez que o ponto crítico da representação global dessa função trata-se de um ponto de sela, em que não há maximização nem minimização da resposta. Além disso, o gráfico de Pareto (Figura 36) informa que o efeito correspondente ao termo quadrático da concentração de APDC não foi significativo, ou seja, dentro dessa faixa de concentração, o complexante não exerce nenhuma influência sobre a curvatura do modelo e conseqüentemente para o ponto crítico. Como esta variável é relevante para o processo de extração, torna-se necessário investigar maiores concentrações de APDC.

Figura 36. Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados dos termos obtidos na modelagem por planejamento CCD. (L) corresponde aos termos lineares e (Q) corresponde aos termos quadráticos.



A Tabela 20 apresenta a ANOVA para essa modelagem. Os gráficos de distribuição dos resíduos e de probabilidade normal estão disponíveis no Anexo A.

Tabela 20. Análise de Variância para o modelo obtido do planejamento CCD.

Fator	SQ	GL	MQ	F _{calculado}	p-valor
APDC (L)	0,041538	1	0,041538	1149,505	0,000000
APDC (Q)	0,000113	1	0,000113	3,120	0,085813
[TBAB] (L)	0,072713	1	0,072713	2012,242	0,000000
[TBAB] (Q)	0,021953	1	0,021953	607,521	0,000000
Tempo (L)	0,000870	1	0,000870	24,074	0,000020
Tempo (Q)	0,003448	1	0,003448	95,414	0,000000
APDC (L) x [TBAB] (L)	0,003971	1	0,003971	109,896	0,000000
APDC (L) x [TBAB] (L)	0,002740	1	0,002740	75,827	0,008789
APDC (L) x [TBAB] (L)	0,000277	1	0,000277	7,678	0,000000
Erro (Resíduo)	0,047841	41	0,001167		
Total	0,195604	50			

Verifica-se que 99,33% dos dados podem ser explicados por esse modelo ($R^2 = 0,7554$), entretanto devido a não-obtenção de uma condição ótima nesse intervalo do domínio experimental investigado, foi necessário deslocar a região de estudo no sentido de máxima inclinação da resposta e realizar um novo planejamento composto central.

A partir dessas informações, foram então investigadas novas condições para essas variáveis afim de alcançar o ponto ótimo da extração. A matriz do segundo planejamento fatorial composto com ponto central, bem como os resultados obtidos de cada experimento estão representados na Tabela 21.

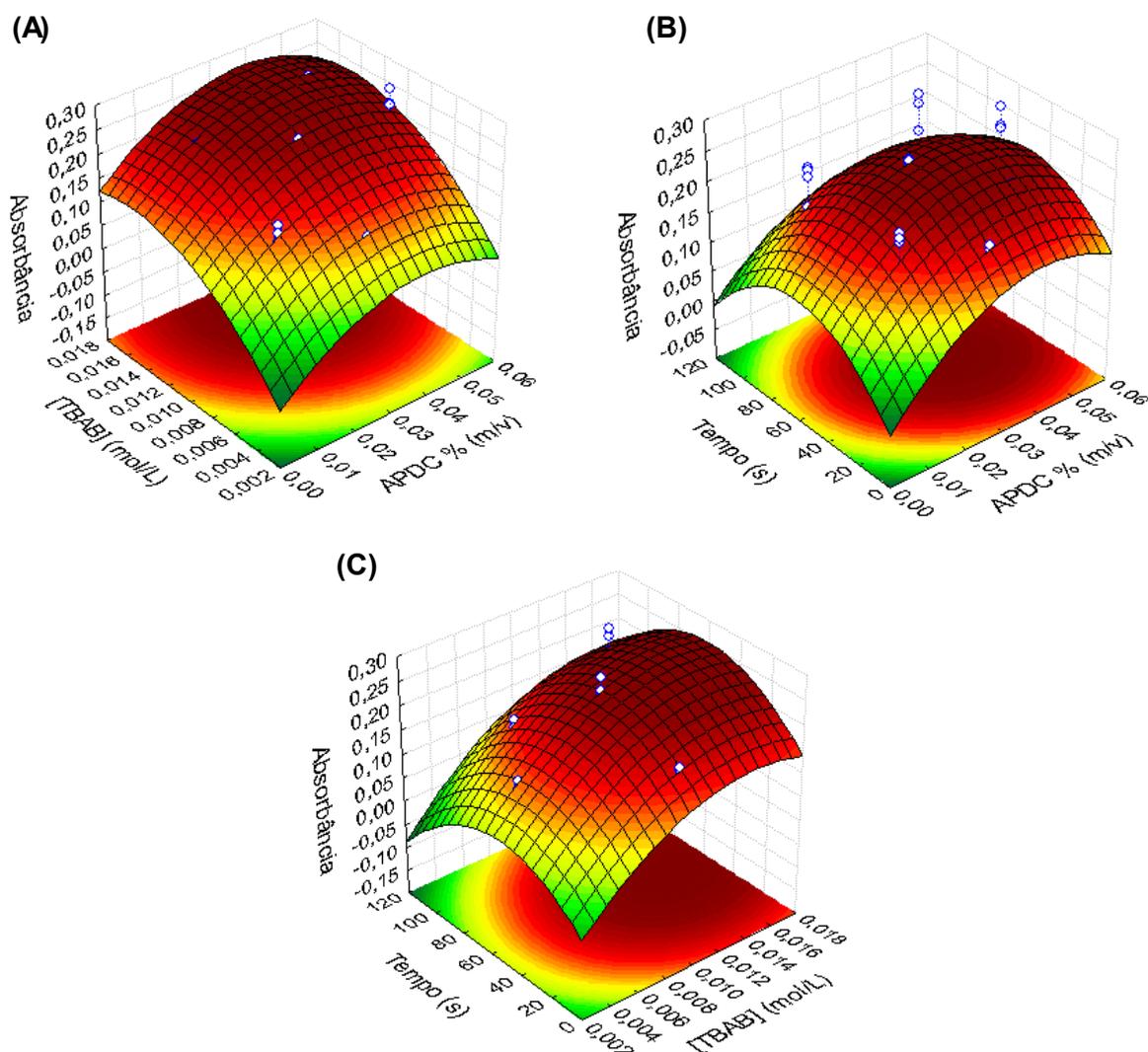
Tabela 21. Matriz do Segundo Planejamento CCD para a otimização das condições experimentais de extração de As(III) por ISQ_{AS}-SPE.

Experimento	APDC %(m/v)	[TBAB] (mol L ⁻¹)	Tempo (s)	Absorbância Média (n=3)
1	- (0,0150)	- (0,0070)	- (30)	0,1126±0,0059
2	- (0,0150)	- (0,0070)	+ (90)	0,1510±0,0165
3	- (0,0150)	+ (0,0140)	- (30)	0,2127±0,0067
4	- (0,0150)	+ (0,0140)	+ (90)	0,2239±0,0071
5	+ (0,0450)	- (0,0070)	- (30)	0,1432±0,0209
6	+ (0,0450)	- (0,0070)	+ (90)	0,1339±0,0135
7	+ (0,0450)	+ (0,0140)	- (30)	0,2199±0,0010
8	+ (0,0450)	+ (0,0140)	+ (90)	0,2506±0,0316
9	-1,68 (0,0050)	0 (0,0100)	0 (60)	0,0816±0,0025
10	+1,68 (0,0550)	0 (0,0100)	0 (60)	0,2528±0,0316
11	0 (0,0300)	-1,68 (0,0040)	0 (60)	0,1253±0,0112
12	0 (0,0300)	+1,68 (0,0160)	0 (60)	0,2370±0,0148
13	0 (0,0300)	0 (0,0100)	-1,68 (9,0)	0,1907±0,0033
14	0 (0,0300)	0 (0,0100)	+1,68 (110)	0,0995±0,0008
15 (P.C.)	0 (0,0300)	0 (0,0100)	0 (60)	0,2237±0,0011
16 (P.C.)	0 (0,0300)	0 (0,0100)	0 (60)	0,2388±0,0063
17 (P.C.)	0 (0,0300)	0 (0,0100)	0 (60)	0,2497±0,0004

Condição preliminar do sistema FI-HG AAS: [HCl] 1,0 mol L⁻¹, NaBH₄ 0,5% (m/v), vazão 4,0 mL min⁻¹. Absorbância média do padrão aquoso de As(III) 5,0 µg L⁻¹: 0,0474±0,0026.

Tais resultados foram utilizados para construir as novas superfícies de respostas que estão ilustradas nas Figuras 37A, 37B e 37C. Aplicando-se o critério de Lagrange sobre a função que descreve o modelo, pode-se observar que o ponto crítico correspondente ao ponto de máximo foi alcançado, do qual foi possível obter as condições otimizadas. Esses valores críticos que indicam as condições ótimas de extração de As(III) pelo método ISQ_{AS}-SPE são 0,038% (m/v) de APDC; 0,015 mol L⁻¹ de TBAB durante o tempo de extração de 58 segundos.

Figura37. Superfícies de resposta obtidos pelo segundo planejamento CCD. **(A)** APDC x [TBAB], mantendo tempo constante; **(B)** APDC x tempo, mantendo [TBAB] constante; **(C)** [TBAB] x tempo, mantendo [APDC] constante.



As funções polinomiais que descrevem cada superfície de resposta dessa modelagem estão representadas respectivamente nas equações a seguir:

$$\text{Abs} = 7,2800 (\text{APDC}) - 93,6872 (\text{APDC})^2 + 37,2429 [\text{TBAB}] - 1236,2525 [\text{TBAB}]^2 - 2,1617 (\text{APDC})[\text{TBAB}] - 0,1476$$

$$Abs = 7,7259 (APDC) - 93,6872 (APDC)^2 + 0,0038 (tempo) - 0,00003210 (tempo)^2 - 0,0078 (APDC)(tempo) - 0,0134$$

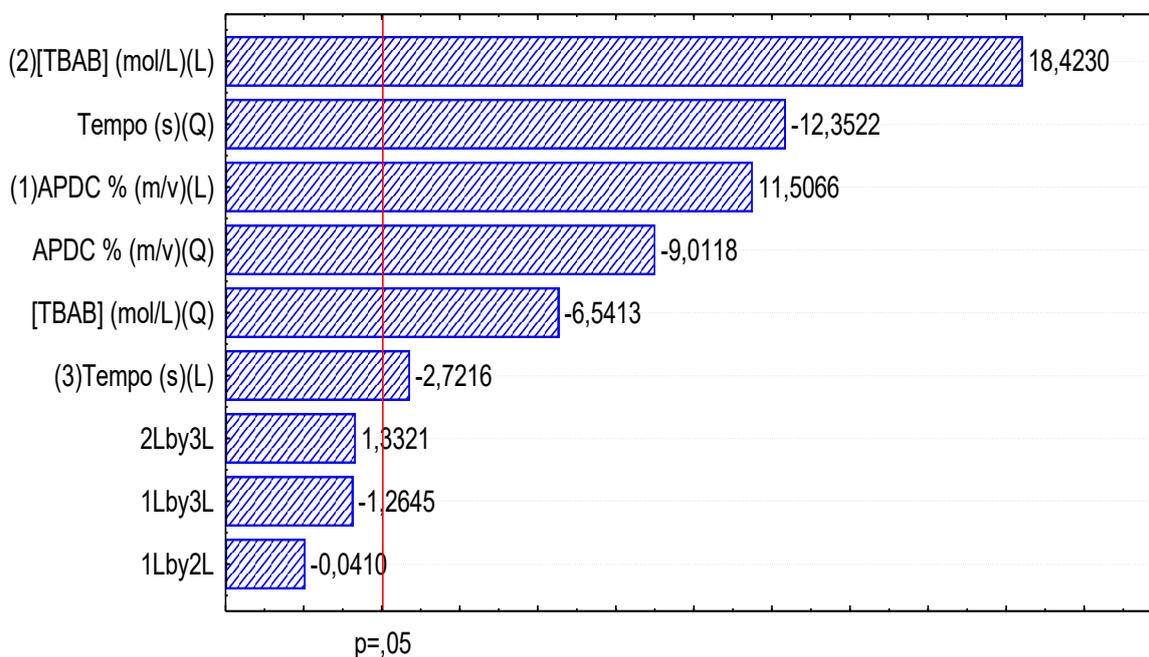
$$Abs = 35,0720 [TBAB] - 1236,2525 [TBAB]^2 + 0,0033 (tempo) - 0,00003210 (tempo)^2 + 0,0351 [TBAB](tempo) - 0,0954$$

$$\frac{\partial Abs}{\partial (APDC)} = \frac{\partial Abs}{\partial [TBAB]} = \frac{\partial Abs}{\partial (tempo)} = 0$$

Conjunto solução da equação : {APDC = 0,038% (m/v); [TBAB] = 0,015 mol L⁻¹; tempo = 58 s}

A significância dos termos da função global pode ser verificada por meio do gráfico de Pareto representado na Figura 38. Pode-se observar que os efeitos de todos os termos quadráticos das variáveis foram significativos, colaborando para curvatura do modelo e evidenciando mais o ponto de maximização do sinal. Os gráficos de distribuição dos resíduos e de probabilidade normal para essa segunda modelagem estão disponíveis no Anexo B.

Figura 38. Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados dos termos obtidos na segunda modelagem por planejamento CCD. (L) corresponde aos termos lineares e (Q) corresponde aos termos quadráticos.



O teste ANOVA para essa segunda modelagem está apresentado na Tabela 22. Apesar do ajuste obtido não ter sido tão razoável, com $R^2 = 0,73361$, o ANOVA aponta para uma boa porcentagem de variação explicável (96,16%), sendo que a modelagem permitiu a obtenção de valores ótimos para já promover aumento satisfatório na detectabilidade a níveis

traço de arsênio dentro das condições experimentais empregadas no momento. Vale ressaltar que o sistema em fluxo HG AAS ainda não estava otimizado estando sujeito a algumas turbulências que podem ter sido responsáveis por uma maior variação nos resultados.

Foi verificado que em alguns experimentos dessa modelagem, houve rompimento nas conexões pela pressão provocada devido ao acúmulo de uma mínima quantidade de fase sólida excedente, que também foi aspirada junto com a suspensão da amostra. O aumento da impedância hidrodinâmica também está associada com a alta pressão dos gases gerados no sistema. Entretanto o ganho da detectabilidade obtida com o ponto ótimo deste é mais apreciável do que os resultados obtidos com o CCD anterior, com aumento de 42,44% de sinal médio em relação ao ponto central.

A realização de uma nova modelagem, iria levar a condições arriscadas por explorar uma região do domínio experimental que já seria limitante do processo de extração, bem como na detecção. Verifica-se ainda que o ganho da detectabilidade alcançado neste modelo tem maior contribuição para o método do que os reflexos provocadas pela perda de precisão do mesmo, em relação ao do estudo anterior.

Tabela 22. Análise de Variância para o modelo obtido no segundo planejamento CCD.

Fator	SQ	GL	MQ	F _{calculado}	p-valor
APDC (L)	0,024250	1	0,024520	132,4022	0,000000
APDC (Q)	0,015040	1	0,015040	81,2124	0,000000
[TBAB] (L)	0,062855	1	0,062855	339,4052	0,000000
[TBAB] (Q)	0,007924	1	0,007924	42,7893	0,000000
Tempo (L)	0,001372	1	0,001372	7,4071	0,009947
Tempo (Q)	0,028256	1	0,028256	152,5762	0,000000
APDC (L) x [TBAB] (L)	0,000000	1	0,000000	0,0017	0,967501
APDC (L) x [TBAB] (L)	0,000296	1	0,000296	1,5989	0,214184
APDC (L) x [TBAB] (L)	0,000329	1	0,000329	1,7747	0,191175
Erro (Resíduo)	0,046274	41	0,001129		
Total	0,173710	50			

5.2.3. Otimização do sistema FI-HG AAS

Com as condições de extração de As(III) pelo método ISQ_{AS}-SPE já devidamente otimizadas, seguiu-se então para a otimização da detecção pelo sistema FI-HG AAS. As etapas desse processo de otimização consistiram em estudos univariados, uma vez que se poderia proporcionar maior controle experimental e assim minimizar a ocorrência de erros aleatórios, devido a um maior número de variáveis a serem consideradas nesse sistema.

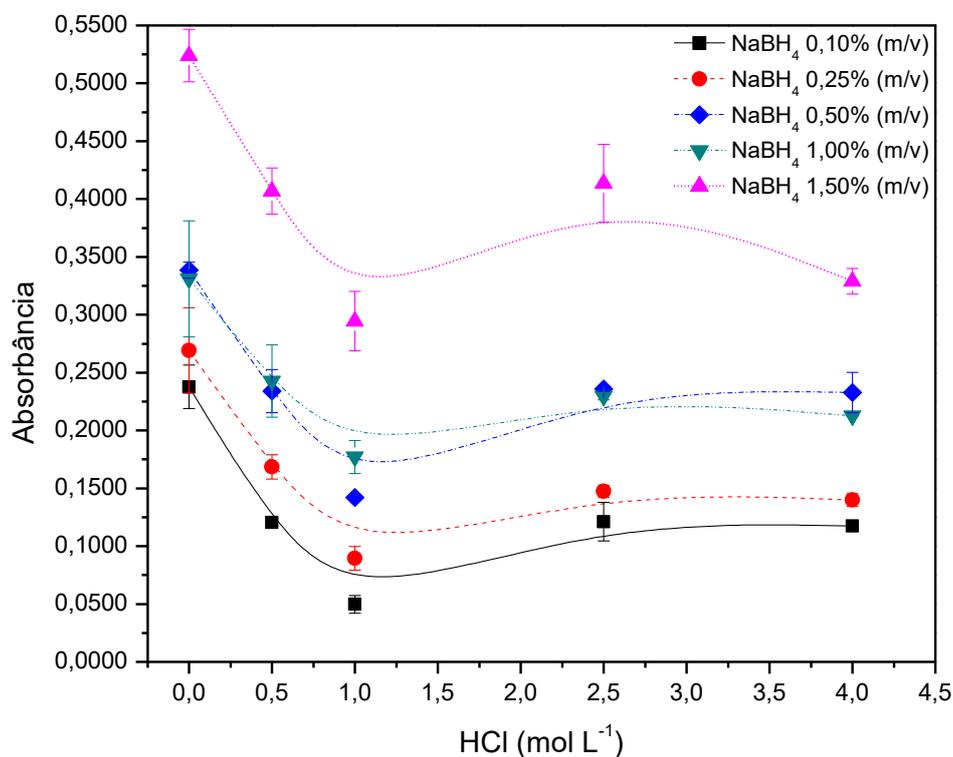
5.2.3.1. Estudo das concentrações do redutor NaBH₄ e carreador (acidez do meio)

Diversos autores tem reportado que o uso do ácido clorídrico tem sido mais adequado para sistemas de geração de hidretos a partir da reação com NaBH₄. A acidez do meio reacional é uma condição necessária para promover a geração da arsina de forma seletiva, uma vez que AsH₃ é formado preferencialmente no estado de menor número de oxidação e em uma faixa de pH mais ampla (pH 1-6). Para a espécie As(V), torna-se necessário uma etapa de pré-redução, que só ocorre em valores de pH mais ácidos (próximos de 1,0) para somente então poder gerar AsH₃, necessitando consequentemente de uma maior concentração de NaBH₄.

Segundo Pierce *et. al.*, quanto maior o poder oxidante do ácido, maior a sua interferência, logo os grupos oxidantes associados ao tipo do ácido escolhido para promover a reação podem ser responsáveis pela diminuição da eficiência de geração do hidreto, uma vez que se tem maior consumo da solução redutora e alteração do equilíbrio redox do analito. Por isso, o uso de ácidos com poder oxidante como HNO₃ e HClO₄ devem ser evitados. Segundo Kang e Valentine, há uma tolerância para esses ácidos em concentrações de até 13% e 25%, respectivamente (PIERCE e BROWN, 1976; KANG e VALENTINE, 1977). Na necessidade do emprego desses ácidos, uma alternativa seria evitar altas concentrações dos mesmos em um meio que suporte uma maior concentração de NaBH₄. No intuito de evitar condições controversas, foi então empregado HCl como meio diluente e lixiviador da fase sólida, de forma em que também pudesse ser aproveitado para promover a reação de geração do hidreto AsH₃.

Para este estudo, quatro diferentes concentrações de ácido clorídrico empregadas como soluções carreadoras (0,5; 1,0; 2,5 e 4,0 mol L⁻¹) foram combinadas com as concentrações do redutor NaBH₄, que variou na faixa de 0,1 a 1,5% (m/v). Foi verificado também o emprego de apenas água na linha carreadora (HCl 0,0 mol L⁻¹) e os resultados são apresentados na Figura 39.

Figura 39. Estudo de otimização da concentração do redutor NaBH_4 e carreador na determinação de As(III) extraído no sistema FI-HG AAS.



Pode-se observar que o efeito da concentração da solução de HCl como carreador apresentou o mesmo perfil para todas as concentrações de NaBH_4 estudadas, sendo que melhores resultados foram obtidos quando se utiliza somente água como carreador. Vale ressaltar que a concentração de HCl utilizada como diluente na lixiviação do complexo As(PDC)_3 adsorvido na fase sólida sedimentada é a mesma da qual foi empregada nas respectivas soluções carreadoras. Quando se utilizou somente água como carreador, o diluente empregado para lixiviação na amostra foi HCl concentrado (P.A.), o que devido a diferença de viscosidade pode ter ocasionado a formação de uma interface mais definida no contato da amostra pré-concentrada com a água e evitado uma maior diluição durante todo o percurso no sistema de fluxo.

Foi observado também que empregando a solução de HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, a fase sólida não é completamente dissolvida, o que pode ter provocado a queda de sinal em relação a condição de total dissolução da fase sólida com HCl concentrado e utilizando-se água como carreador. Quando se emprega a solução de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ por sua vez, ocorre uma maior dissolução, entretanto ainda parcial, pois foi verificada a presença de partículas muito pequenas dispersas no meio, que também foram aspiradas e introduzidas no sistema de fluxo provocando turbulência e obstruindo o percurso. As demais concentrações de HCl nas soluções diluentes e carreadoras não apresentaram diferenças significativas, com resultados

aproximados aos que foram obtidos com $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Vários trabalhos relatam que maiores concentrações de HCl parecem não afetar significativamente no processo de geração do hidreto de arsênio, então decidiu-se empregar somente água na linha carreadora, considerando apenas o efeito do ácido clorídrico concentrado adicionado para a lixiviação da fase sólida na amostra (AGTERDENBOS e BAX, 1986; MORETTO, 2001).

Já com relação a concentração do redutor, foi verificado de forma geral que a absorvância aumentou com o aumento da concentração de NaBH_4 , obtendo resultados similares entre as concentrações de 0,5 e 1,0% (m/v). Quando se empregou NaBH_4 1,5% (m/v) houve predominância do sinal analítico frente as demais concentrações do redutor. O aumento na concentração do redutor pode ser favorável para que todo o As(III) pré-concentrado na amostra reaja para promover a formação quantitativa da arsina, e ainda garantir que todo As extraído esteja na forma trivalente, no caso de algum provável efeito de oxidação no meio lixiviador da fase sólida. Entretanto altas concentrações de NaBH_4 podem ocasionar a evolução de gás hidrogênio em excesso, de forma que a diluição do AsH_3 no meio já se torna um fator crítico, levando a queda de sinal e baixa precisão.

Comparando-se os resultados obtidos com as concentrações de NaBH_4 1,0 e 1,5% (m/v), pode-se levar em consideração o efeito dos fenômenos da diluição pelo excesso de hidrogênio no meio, e conseqüentemente o aumento da pressão exercida no sistema. Como a maior concentração do redutor apresentou maiores valores de absorvância, infere-se que o aumento da pressão apresentou contribuição favorável para a cinética de formação da arsina em detrimento ao efeito da diluição provocado pelos gases. Entretanto, foi observado que quando se utiliza soluções de HCl como carreador em NaBH_4 1,5% (m/v), houve ignição de gás hidrogênio no interior da cela de quartzo, levando a sinais de fundo (*background*) muito altos e diminuição na precisão dos resultados. Nesse caso pode haver a regeneração de AsH_3 durante a atomização e o excesso de H_2 pode ter recebido contribuição da combinação dos radicais H^\bullet oriundos também do ácido clorídrico nas soluções carreadoras.

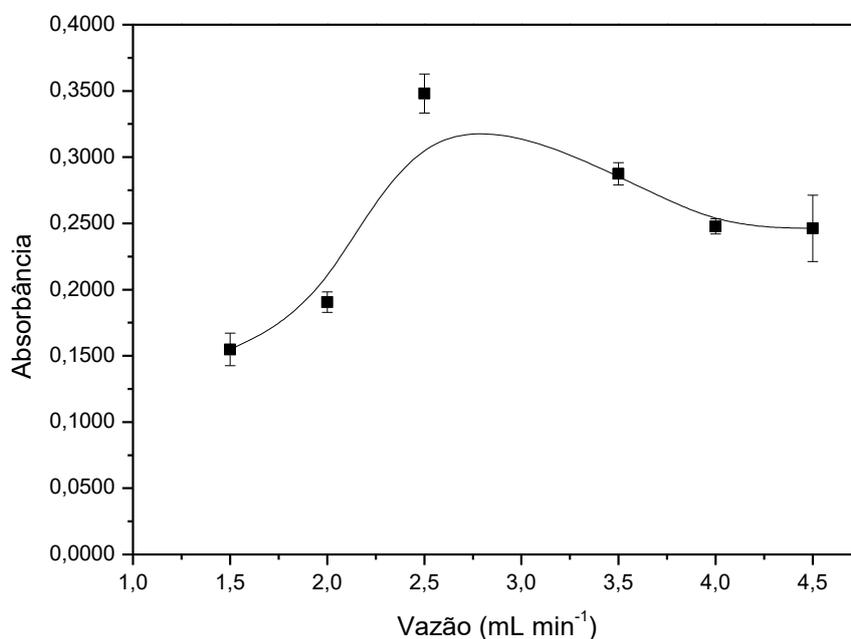
Embora a concentração de NaBH_4 1,5% (m/v) tenha apresentado melhores resultados, optou-se por empregar a concentração de 1,0% (m/v) utilizando apenas água como carreador, por permitir maior estabilidade do sistema. Com isso, tem-se uma condição intermediária, da qual pode compensar alguns prováveis efeitos de consumo excessivo do redutor e/ou prevenir contra a oxidação de parte do As(III) em decorrência da presença dos íons ClO_4^- na solução final. Por parte dessas considerações, então essa condição foi selecionada para os próximos estudos.

5.2.3.2. Estudo da vazão da amostra e vazão do redutor NaBH₄

O efeito da vazão da amostra e do redutor NaBH₄ foi avaliado no intervalo de 1,5 a 4,5 mL min⁻¹. Como o sistema em fluxo empregado é análogo ao de zonas coalescentes tradicional, as vazões da amostra e do NaBH₄ devem ser iguais e assim evitar a prioridade da ação de um sobre outro de forma que o reagente redutor se torne excedente ou limitante em relação a amostra.

Na Figura 40 são apresentados os resultados obtidos para o estudo de otimização da vazão da amostra e redutor.

Figura 40. Estudo de otimização das vazões da amostra e do redutor NaBH₄ 1,0% (m/v), empregando água como carreador e bobina reacional de 25 cm.



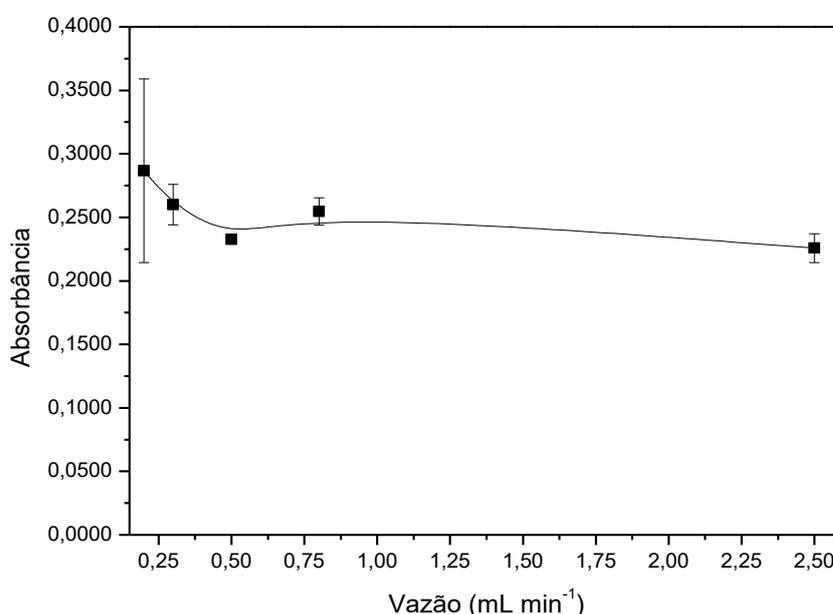
Foi observado que a absorbância aumenta de forma acentuada até 2,5 mL min⁻¹ e acima desse valor ocorre diminuição do sinal analítico com tendência a se estabilizar a partir de 4,0 mL min⁻¹. Não foram avaliadas vazões superiores a 4,5 mL min⁻¹, uma vez que ocorria ignição de hidrogênio na cela de quartzo, comprometendo a detecção.

Foi selecionado 2,5 mL min⁻¹ como melhor vazão da amostra e do redutor, uma vez que vazões inferiores a este não apresentaram uma cinética de reação favorável, e vazões acima deste não chegaram a proporcionar um tempo satisfatório para o contato da amostra com redutor e promover uma reação efetiva antes de chegarem ao separador gás-líquido. A vazão escolhida também colabora para uma boa frequência analítica, e evita o consumo de maiores quantidades dos reagentes, dispensando maior número de réplicas da amostra além de manter o compromisso com a sensibilidade.

5.2.3.3. Estudo da vazão do carreador

A Figura 41 refere-se ao estudo da vazão do carreador (vazão da água) sobre o sistema de detecção. Uma vez, fixada a vazão da amostra e do redutor NaBH_4 em $2,5 \text{ mL min}^{-1}$, a variação da vazão do carreador consistiu na substituição dos tubos Tygon® para esse linha com diâmetros internos correspondentes as vazões que variaram na faixa de $0,2$ a $2,5 \text{ mL min}^{-1}$.

Figura 41. Estudo da otimização da vazão do carreador [NaBH_4 $1,0\%$ (m/v), vazões da amostra e NaBH_4 de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$; com bobina reacional de 25 cm].



Nos trabalhos que envolvem estudos de otimização de sistemas geradores de vapor como HG AAS em fluxo contínuo, geralmente é observado que a vazão do carreador (sendo muitas vezes considerada a vazão do ácido) é mais vantajosa em valores menores ou igual as vazões da amostra e do redutor, como uma forma de controlar o progresso da reação a favor de uma formação quantitativa do hidreto de arsênio (AsH_3) (REZENDE, 2014; ALMEIDA, 2014). No caso deste trabalho, a amostra já se encontra acidificada devido a lixiviação da fase sólida contendo arsênio, e a água está sendo empregada como carreador no intuito de apenas assegurar a limpeza e a resolução entre as subseqüentes zonas da mistura.

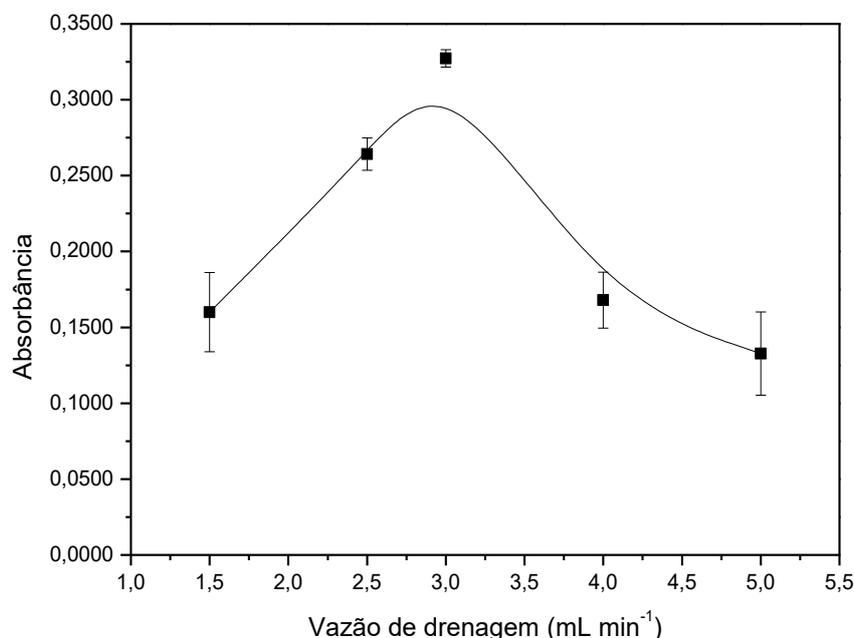
Como não foi observada uma influência muito significativa da vazão do carreador nessa faixa, foi escolhida a vazão de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$, cuja precisão não é comprometida e uma vez que poderia se adequar juntamente com as mesmas vazões que foram determinadas para a amostra e o redutor, tornando a propulsão do sistema mais facilitada.

5.2.3.4. Estudo da vazão de drenagem

Levando em consideração a formação dos gases (arsina mais hidrogênio) e o aumento da pressão exercido pelos mesmos na linha do sistema FI-HG AAS, a vazão da mistura dos produtos juntamente com a fração líquida durante o percurso analítico no momento em que a reação começa a acontecer, pode não ser a mesma da vazão controlada inicialmente na propulsão dada pela bomba peristáltica. Decorrente a esse fato, foi observado um fluxo maior na entrada do separador gás-líquido do que na saída. Além disso, uma vez que a introdução do gás de arraste no separador gás-líquido foi adaptado a partir do módulo comercial de geração de vapor por amostragem contínua (VGA-77 manifold), a vazão da drenagem foi controlada pela bomba peristáltica desse mesmo acessório que apresenta somente uma única velocidade de rotação, sendo diferente das vazões das demais linhas. Devido a tais fatores, se tornou necessário verificar como a variação da vazão do descarte pode afetar na obtenção do sinal de resposta.

O estudo da vazão de drenagem, cujo os resultados são apresentados na Figura 42, consistiu na substituição dos tubos Tygon® com diâmetros internos correspondentes as vazões que variaram na faixa de 1,5 a 5,0 mL min⁻¹.

Figura 42. Estudo de otimização da vazão de drenagem [NaBH₄ 1,0%(m/v); vazões da amostra, NaBH₄ e água de 2,5 mL min⁻¹; com bobina reacional de 25 cm].



Variando-se a vazão de drenagem tem-se como consequência a variação do volume da fração líquida no interior do separador gás-líquido. Quando o descarte é drenado a baixa vazão, este volume é aumentado gradativamente, uma vez que a vazão na entrada é bem

superior a vazão na saída, gerando instabilidade no interior do separador, sendo que foram observados momentos em que o líquido chegava até a cela de quartzo comprometendo a detecção.

Já quando o descarte é drenado a vazões mais altas, foi observado decréscimo de sinal, afetando também a precisão dos resultados. Nessa situação, o tempo de permanência da mistura dentro do separador foi bem mais curta, resultando em um volume muito pequeno de forma que a fração gasosa possa ter sido tão logo aspirada durante a drenagem, ao invés de ser arrastada com o fluxo de nitrogênio que ocorria em um sentido perpendicular a passagem da mistura no separador. Com base nos resultados, foi escolhida a vazão de 3,0 mL min⁻¹ como sendo a melhor vazão para a drenagem que proporcionou estabilidade do volume da fração líquida em até aproximadamente um terço (correspondendo a 2 cm de altura) da capacidade interna do separador gás-líquido.

5.2.3.5. Efeito da vazão do gás de arraste

A separação dos gases da fração líquida e seu transporte até a cela de atomização foi promovida por um fluxo de nitrogênio que foi adaptado ao separador gás-líquido a partir da respectiva linha do sistema *manifold* comercial VGA-77. O controle da vazão do nitrogênio bem como seu posicionamento, que ocorreu de forma perpendicular ao fluxo da mistura, são importantes para promover a varredura e o transporte completo do hidreto à medida em que a parte gasosa é introduzida no separador.

O volume de nitrogênio introduzido provoca a diluição do hidreto durante o seu transporte, então a vazão deve ser controlada de forma que essa diluição não seja crítica sobre a sensibilidade e logo vazões menores são sugeridas. O sistema *manifold* comercial apresenta controle de vazão de nitrogênio fixado em 100 mL min⁻¹ a partir da pressão ajustada no manômetro da linha do gás oriunda do cilindro, conforme recomendações propostas pelo fabricante (Varian®, 2004).

Coelho, Moretto e Vilarinho tem associado em seus respectivos trabalhos, uma relação entre o formato dos sinais transientes durante o registro das leituras com a vazão do gás de arraste. Em vazões muito baixas (abaixo de 80 mL min⁻¹), os sinais ficam distorcidos devido ao transporte irregular do hidreto além de comprometer a reprodutibilidade dos resultados, da mesma forma em que vazões muito altas, a sensibilidade já se torna prejudicada devido à alta diluição do hidreto. Tais autores, mostram que um patamar de vazão compreendida entre 90 a 150 mL min⁻¹, é capaz de proporcionar a obtenção de sinais mais definidos e com melhor repetibilidade (COELHO, 1995; MORETTO, 2001 e VILARINHO, 2003). Uma vez que não foram observados sinais adversos na aquisição das leituras, então decidiu-se manter a vazão do nitrogênio já pré determinada em 100 mL min⁻¹.

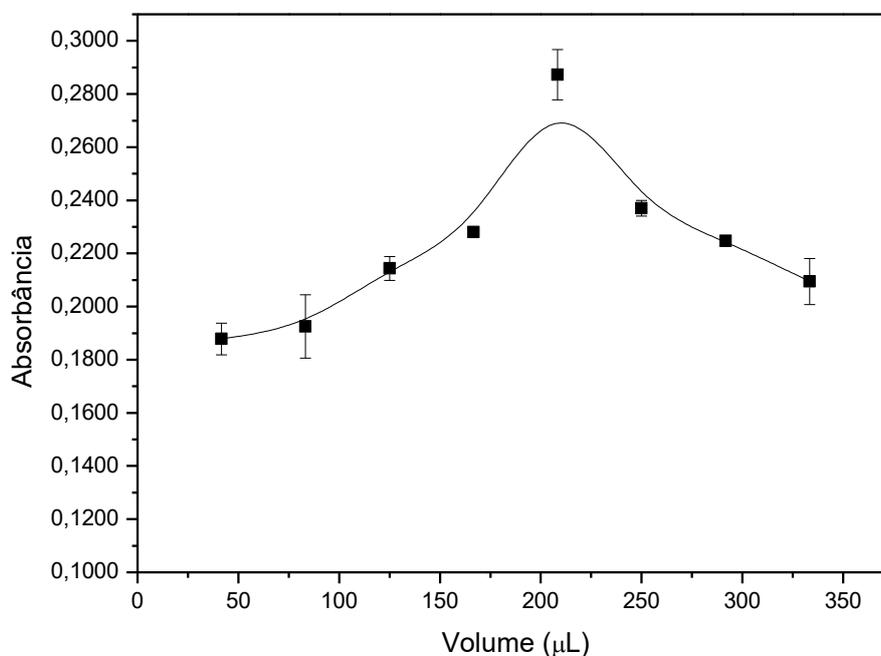
5.2.3.6. Estudo do volume injetado

Tendo já conhecida a melhor vazão da amostra e do redutor e variando-se o tempo de acionamento das válvulas (t_{val}) para a injeção dos mesmos, pode-se então realizar um estudo da variação dos volumes injetados, dos quais foram determinados pela seguinte equação:

$$V_{inj} (\mu L) = \left[Vazão(mL \min^{-1}) \times \frac{t_{val}(s)}{60} \right] \times 1000$$

O tempo de acionamento das válvulas foi controlado de forma que o volume injetado variou na faixa de 41,7 a 333,3 μL e os resultados estão expressos na Figura 43. O volume de água injetada na linha carreadora também consistiu nas mesmas condições, pois assim poderia ser assegurada a limpeza entre as injeções da amostra bem como a resolução. Uma vez que se realizasse o estudo separadamente, o sinal deixaria de ser transiente e iria se transformar num registro quase contínuo no caso da água ser inserida em volumes muito pequenos, ou sujeitaria a amostra ao total detrimento por diluição se volumes bem maiores de água fossem injetados.

Figura 43. Estudo de otimização dos volumes de amostra, $NaBH_4$ e água injetados [$NaBH_4$ 1,0%(m/v); vazões da amostra, $NaBH_4$ e água de 2,5 $mL \min^{-1}$; com bobina reacional de 25 cm].



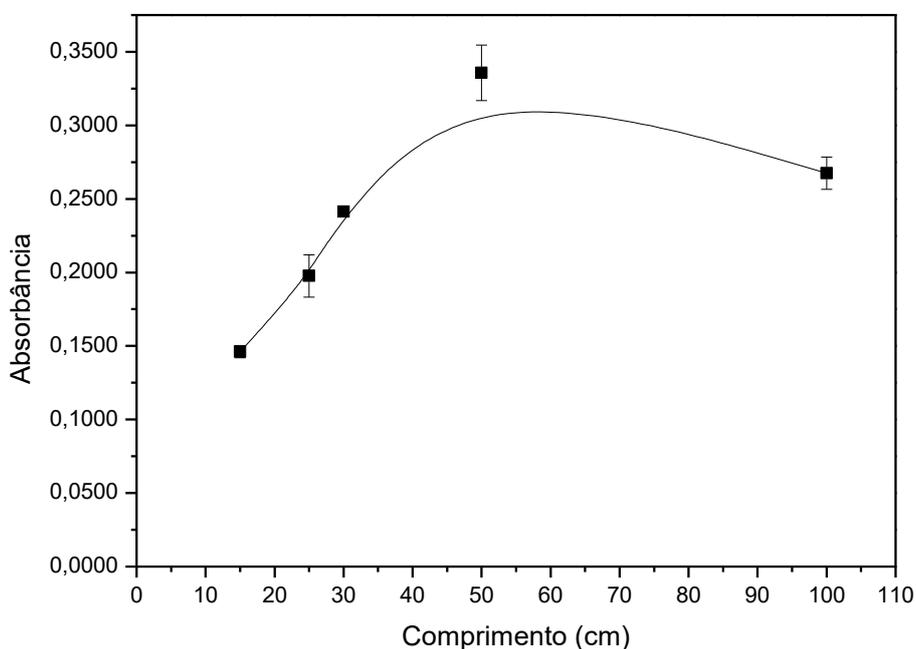
Observa-se que a intensidade do sinal aumenta quando o volume injetado é de até 208,3 μL sendo este então determinado como melhor volume para as injeções da amostra

simultaneamente com NaBH_4 e nas mesmas condições para a água. Quando são injetados volumes maiores, verifica-se diminuição do sinal devido ao alargamento dos picos ocasionados pela dispersão excessiva, resultando em alta quantidade de solução durante a mistura. Esse volume não é comportado totalmente dentro da bobina reacional, levando conseqüentemente a formação de sinais irregulares e não resolvidos. Uma outra limitação da injeção de altos volumes da amostra, é a diminuição da faixa linear de trabalho que passa a ser restrita a um menor limite de linearidade devido a saturação do sinal. O volume selecionado não afeta a frequência analítica por levar a uma rápida resolução de linha de base e proporciona com isso o consumo de baixas quantidades de amostra e de reagentes.

5.2.3.7. Estudo do comprimento da bobina reacional

Para este estudo, cinco bobinas de diferente comprimentos (de 15 até 100 cm) foram testadas e os resultados estão ilustrados na Figura 44.

Figura 44. Estudo de otimização do comprimento da bobina reacional [NaBH_4 1,0%(m/v); vazões da amostra, NaBH_4 e água de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$; com volume injetado de $208,3 \mu\text{L}$].



A bobina reacional é um aparato necessário em sistemas FIA que, de acordo com a conformação adequada, permite uma boa homogeneização entre a amostra e os reagentes, fazendo com que a reação seja promovida durante o tempo considerado satisfatório para seu monitoramento. Logo, o efeito do comprimento da bobina está relacionado diretamente com

os parâmetros cinéticos da reação. O estudo do comprimento da bobina reacional torna-se, portanto relevante, uma vez que a dispersão que ocorre durante o percurso pode ser controlada.

Apesar da cinética de geração do hidreto de arsênio a partir da espécie trivalente ser favorável e este apresentar boa estabilidade, observou-se que a resolução da linha base entre os sinais estava sendo comprometida, além dos picos se tornarem ligeiramente alargados, principalmente para as bobinas de pequeno comprimento. Provavelmente, o aumento da pressão oriunda dos gases formados tenha feito com que a arsina se dispersasse mais rapidamente durante os caminhos mais curtos, provocando como consequência a mistura dos hidretos gerado entre as zonas injetadas.

Os resultados indicam que a bobina de 50 cm proporciona o tempo necessário para a evolução da reação, de forma que o hidreto de arsênio seja formado completamente sem ser afetado pelo efeito de dispersão excessiva, e com a devida resolução de linha de base. Foi considerado, portanto como melhor comprimento para a bobina. No caso da bobina de maior comprimento (100 cm), já foi verificada influência da dispersão, além de que segundo Welz, maiores caminhos de reação podem fazer com que alguns efeitos de interferências, como as que são provocadas por metais de transição, já possam se tornar mais críticos (WELZ e SCHUBERT-JACOBS, 1991).

Diante da otimização das variáveis relativas ao sistema FI-HG AAS para determinação de As(III) pelo método ISQ_{AS}-SPE, a Tabela 23 apresenta um resumo dos valores selecionados frente a faixa estudada em cada etapa desta otimização.

Tabela 23. Condições otimizadas dos parâmetros associados ao sistema FI-HG AAS.

Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
Concentração NaBH ₄ %(m/v)	0,1 – 1,5	1,0
	Para carreamento: 0,0 – 4,0	0,0 (H ₂ O)
Concentração HCl (mol L ⁻¹)	---	1,0 mL de HCl P.A.
	Para geração de AsH ₃ :	(adição na amostra)
Vazão da amostra e NaBH ₄ (mL min ⁻¹)	1,5 – 4,5	2,5
Vazão do carreador (mL min ⁻¹)	0,2 – 2,5	2,5
Vazão de drenagem (mL min ⁻¹)	1,5 – 5,0	3,0
Vazão de N ₂ (mL min ⁻¹)	---	100,0
Volume injetado (µL)	41,7 – 333,3	208,3
Comprimento da bobina (cm)	15 - 100	50

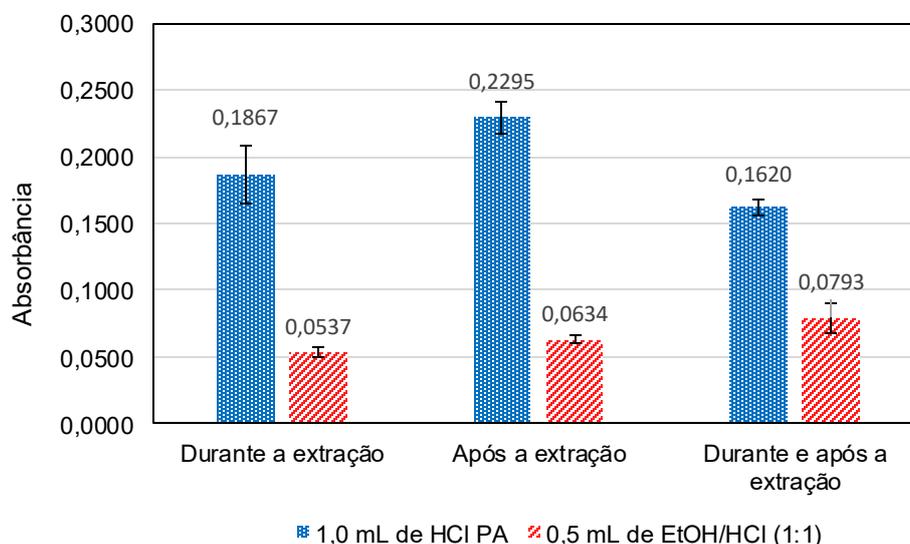
5.2.4. Estudo da composição do meio lixiviador e efeito da radiação ultrassônica

Uma vez que a fase sólida extratora também é solúvel em meio orgânico adequado, surgiu o interesse de estudar a composição final da amostra pré-concentrada, com a inclusão de solvente orgânico (etanol) juntamente com o ácido clorídrico. Tem-se como intuito dessa investigação, verificar se a lixiviação dessa fase sólida sedimentada poderia ser mais completa em uma mistura HCl/etanol. Se essa mistura for adicionada em um volume menor que o do meio original (1,0 mL de HCl P.A.), pode-se aprimorar o enriquecimento do analito pela redução do volume da fase pré-concentrada da amostra, resultando em um melhor fator de pré-concentração.

De acordo com as condições de trabalho reportadas por Ezoddin, *et. al.*, a extração de arsênio por ISQ_{AS}-SPE, seguida da determinação por ETAAS, foi assistida por radiação ultrassônica. Segundo os autores, a sonicação auxilia na dispersão das partículas do sorvente na solução da amostra e conseqüentemente promove o aumento na transferência de massa do analito para a fase sólida extratora, reduzindo ainda mais o tempo de extração. Baseado nessas condições, também foi realizado um estudo verificando a influência da radiação ultrassônica durante a extração [em substituição a agitação manual, durante o mesmo intervalo de tempo (58 s)], bem como após a extração, como uma forma de potencializar a ação lixivadora sobre a fase sólida sedimentada (EZODDIN, MAJIDI e ABDI, 2015).

Tais estudos consistiram em comparar os diferentes meios lixivadores (meio ácido: adição de 1,0 mL de HCl P.A.; e em meio etanólico: adição de 0,5 mL da mistura HCl/etanol 1:1) submetidas a radiação ultrassônica durante, após, e durante e após a extração. Os resultados estão apresentados na Figura 45.

Figura 45. Estudo do efeito da radiação ultrassônica em duas diferentes composições do meio lixivador.



Verificou-se que visualmente, a adição de 0,5 mL da mistura em meio ácido-etanólico não proporcionou a devida dissolução da fase sólida sedimentada conforme esperado, mesmo quando submetida a sonicação. A suspensão resultante dessa fase resultou em um aspecto turvo esbranquiçado. Talvez o volume adicionado não tenha sido suficiente para promover essa dissolução nessas condições, e a adição de volumes maiores dessa mistura já fugiria dos propósitos deste estudo, uma vez que se objetiva em obter melhores fatores de enriquecimento e pré-concentração.

A fim de verificar se houve uma certa eluição lixiviadora do arsênio por parte da ação ultrassônica após a extração, as amostras foram levadas a leitura. Para evitar turbulências no momento da determinação, as amostras contendo a mistura em meio ácido-etanólico foram filtradas com auxílio de uma seringa em membranas de acetato de celulose (0,45 μm) antes de serem submetidas ao sistema FI-HG AAS.

Conforme pode ser observado pelos resultados, as amostras pré-concentradas em meio ácido-etanólico não proporcionaram condições favoráveis para a determinação de arsênio mediante geração de hidretos. Isso porque, como o ácido clorídrico não estava em meio aquoso, o seu grau de ionização pode ter sido afetado, não dispondo dos íons H_3O^+ suficientes para promover a ação redutora do NaBH_4 e a conseqüente formação da arsina. Um outro fator que pode ter sido responsável por essa neutralização dos íons H_3O^+ , é que o ácido clorídrico concentrado levou a protonação do etanol, o que ocasionou a sua conversão a cloroetano por meio da ocorrência da reação de substituição nucleofílica (BRUCE, 2006). Essa reação apesar de ser lenta e requerer aquecimento para ocorrer em um período de tempo razoável, pode ter sido desenvolvida, uma vez que essas amostras foram armazenadas durante o período de 10 a 12 horas entre a adição da mistura ácido-etanólica e a determinação de arsênio nesse meio. Devido a esses fatos, decidiu-se preservar as condições do meio lixiviador original.

Quanto ao efeito da radiação ultrassônica, percebeu-se uma ação não muito significativa sobre a lixiviação, uma vez que boa parte da fase sólida sedimentada ainda se manifestava tendendo para um aspecto coloidal, mas não floculento. Somente o efeito da sonicação não foi suficiente para aprimorar a transferência do analito entre as fases, principalmente durante a extração. A forma em que esse contato é promovido tem sido considerado o momento limitante para uma boa recuperação. Em comparação com a agitação manual, a sonicação se mostrou indiferente sobre a possibilidade de intensificar a dispersão das partículas sólidas na solução inicial da amostra, uma vez que não foi verificada aglomeração de tais partículas no meio como é observado quando se faz a agitação manual.

Portanto para esse intuito, dispensou-se a ação da radiação ultrassônica durante as etapas de extração, uma vez que como o método se aplica a finalidades de especificação química, essa radiação pode ser considerada fonte de interferência frente a ocorrência de

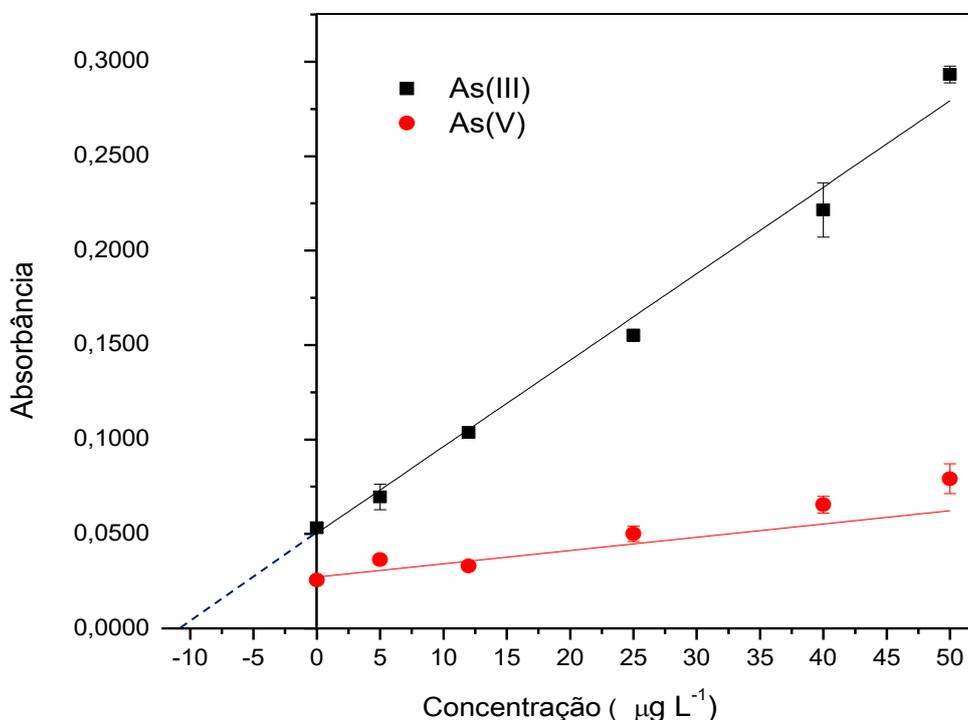
interconversão das espécies de arsênio (NEPPOLIAN, DORONILA e ASHOKKUMAR, 2010). Decidiu-se então permanecer nas mesmas condições a que já se haviam sido empregadas anteriormente antes desse estudo

5.2.5. Eficiência da recuperação e enriquecimento da extração

Para determinar a eficiência da recuperação, afim de avaliar a capacidade de aplicação do método para pré-concentração, foi preciso determinar a concentração de arsênio na solução final da amostra pré-concentrada. Essa determinação foi realizada mediante a construção de uma curva de calibração por adição de padrão. O mesmo procedimento também foi realizado para a espécie As(V) para verificar o comportamento da sensibilidade do mesmo frente a seletividade do método para As(III), e assim estimar uma garantia analítica para análise de especiação.

As curvas de calibração obtidas por fortificação adequada das alíquotas da amostra pré-concentrada para ambas as espécies inorgânicas de arsênio estão representadas na Figura 46.

Figura 46. Curvas de calibração para As(III) e As(V) por adição de padrão sobre as alíquotas da solução da amostra pré-concentrada.



As equações da calibração por adição de padrão bem como os coeficientes de determinação para o ajuste linear das curvas para cada espécie de arsênio, estão apresentadas na Tabela 24.

Tabela 24. Parâmetros da calibração por adição de padrão obtidos para as espécies de arsênio estudadas.

Espécies	Equação de calibração	R ²
As(III)	$Abs = 0,00458 C_{As(III)} + 0,05042$	0,99028
As(V)	$Abs = 0,00069 C_{As(V)} + 0,02722$	0,47718

A calibração por adição de padrão se mostra mais adequada para determinação de arsênio nesse caso, uma vez que a amostra pré-concentrada é constituída de um meio não-aquoso. Logo, prováveis efeitos de interferência de matriz podem ser contornados, pois estes são nivelados em cada ponto da calibração. A concentração de arsênio nas condições que a calibração foi construída, foi então determinada a partir da extrapolação gráfica, levando em consideração os efeitos de diluição. Como uma forma de expressar e avaliar a recuperação obtida, o resultado foi comparado em relação a proporção volumétrica para o cálculo do fator de enriquecimento (FE) e eficiência de extração (EE) dos quais podem ser obtidos pelas seguintes equações:

$$FE = \frac{C_{As(III)}^{fpc}}{C_{As(III)}^{si}}$$

onde *fpc* é a fase da amostra pré-concentrada e *si* é a solução inicial da amostra.

$$EE (\%) = \frac{C_{As(III)}^{fpc} \text{ encontrada}}{C_{As(III)}^{fpc} \text{ teórica}} \times 100$$

Um outro parâmetro bastante útil para avaliar a eficiência de extração em procedimentos de pré-concentração que pode ser aplicado em sistemas do tipo *off-line* como é neste caso, é o fator de transferência de fase (*P*). Este parâmetro é definido como a razão entre a massa da espécie analítica na fase concentrada (m^{fpc}), e a massa da espécie analítica na amostra original (m^{si}), como representado pela equação a seguir.

$$P = \frac{m_{fpc}}{m_{si}}$$

O fator de transferência de fase está mais associado com a capacidade de coleta, como por exemplo um mecanismo de sorção. Valores de *P* próximos a 1,0 podem representar extrações quantitativas, e valores muito abaixo da unidade podem ser decorrentes de efeitos de matriz e interferências (HARTSTEIN, RUZICKA e CHRISTIAN, 1985).

A concentração de As(III) idealmente esperada (teórica) foi calculada a partir da proporção entre os volumes da solução inicial da amostra e da fase da amostra pré-concentrada. A fase sólida sedimentada contendo As(III) pré-concentrado, já ocupava um volume no fundo do frasco, de forma que após a adição de 1,0 mL de HCl P.A. a solução resultante da referida fase passou a apresentar um volume final de 1,5 mL. Como o procedimento de extração/pré-concentração partiu de 10 mL da solução padrão de As(III) 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, o fator volumétrico é de 6,66 levando a uma concentração teórica de 33,33 $\mu\text{g L}^{-1}$.

De acordo com o procedimento para a construção da curva de calibração por adição de padrão, a concentração de As(III) na fase da amostra pré-concentrada foi determinada em 29,36 $\mu\text{g L}^{-1}$, resultando no fator de enriquecimento de 5,87. Este fator corresponde a uma eficiência de extração de 88,18%. Tais resultados mostram que as condições otimizadas proporcionam aplicação eficiente do método para extração e pré-concentração, uma vez que essa recuperação se enquadra dentro da faixa aceitável recomendada pela AOAC*.

Uma vez conhecida as concentrações da espécie analítica de interesse nas fases concentrada e da amostra original, bem como dos seus respectivos volumes, pode-se obter o fator de transferência de fase, conforme definido anteriormente. O valor obtido foi $P = 0,88$ confirmando a eficiência da extração. Tal resultado é consistente com os demais parâmetros, podendo indicar também que prováveis efeitos de matriz não comprometem significativamente no processo da extração.

A calibração obtida para As(V) por outro lado, não apresenta sensibilidade, sendo observado o não cumprimento da lei de Lambert-Beer principalmente na região de menores concentrações, de onde o método passa ter maiores implicações frente a determinações em amostras reais.

O ajuste não satisfatório da linearidade também faz com que não seja validado para aplicações analíticas, de forma que nesse momento, nenhuma informação quantitativa com relação a essa espécie pode ser obtida. Para tanto, torna-se necessário um estudo de pré-redução, que leva todas as espécies de arsênio a forma reduzida (trivalente), do qual somente a partir daí, a discriminação das espécies inorgânicas de arsênio toma proporções quantitativas válidas. Logo, o método tem seu potencial promissor para especificação confirmado, uma vez que as condições do método são propostas para extração seletiva da espécie As(III).

*Associação Oficial de Química Analítica (Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 20th edition, 2016) propõe recuperações aceitáveis na faixa de 80-120% para determinações de micro-elementos.

Disponível em (acesso em 30/06/2017):

http://www.aoac.org/aoac_prod_imis/aoac/publications/official_methods_of_analysis/aoac_member/pubs/oma/aoac_official_methods_of_analysis.aspx?hkey=5142c478-ab50-4856-8939-a7a491756f48

5.2.6. Estudo dos pré-redutores

A determinação de arsênio total foi possível mediante etapa de pré-redução da espécie pentavalente, sendo que esta pode então ser determinada indiretamente por diferença. Foram selecionados quatro agentes redutores, dos quais tem sido mais utilizados para esta finalidade em estudos de especiação, e são estes: Cloridrato de hidroxilamina (NIEDZIELSKI e SIEPAK, 2003), L-cisteína (JIANG, HU, *et al.*, 2009), tiouréia (WU, WANG, *et al.*, 2011) e iodeto de potássio em meio de ácido ascórbico 1:1 (m/m) (CERVEIRA, POZEBON, *et al.*, 2015). Os resultados obtidos são apresentados em conjunto na Figura 47, e para uma melhor percepção dos resultados de cada pré-redutor, estes são apresentados individualmente na Figura 48.

Figura 47. Estudo dos pré-redutores representados conjuntamente para determinação de arsênio total. Limite inferior – Absorbância média da solução pré-concentrada de As(III) $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$: $0,2714 \pm 0,0144$. Limite superior – Absorbância média da solução pré-concentrada de As(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$: $0,5240 \pm 0,0228$.

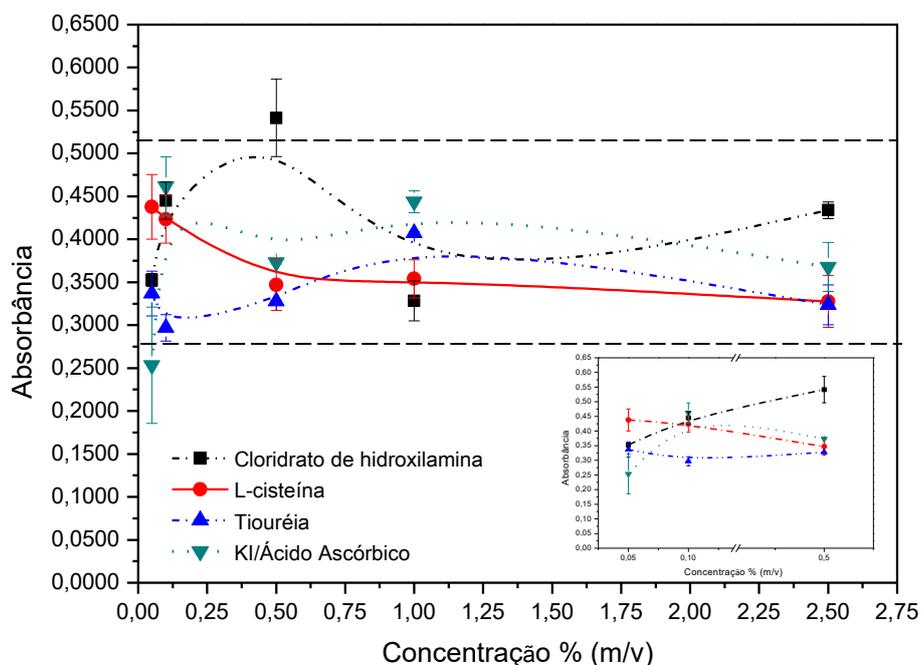
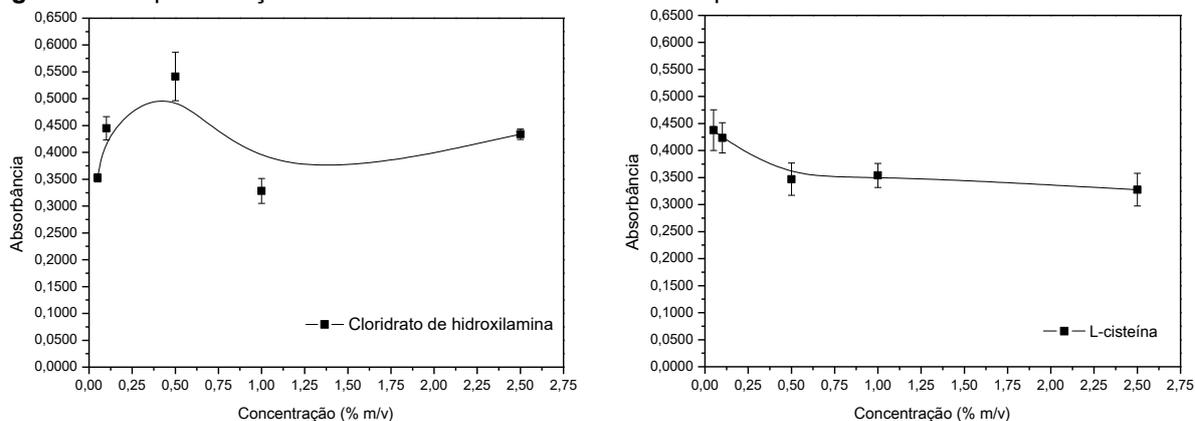
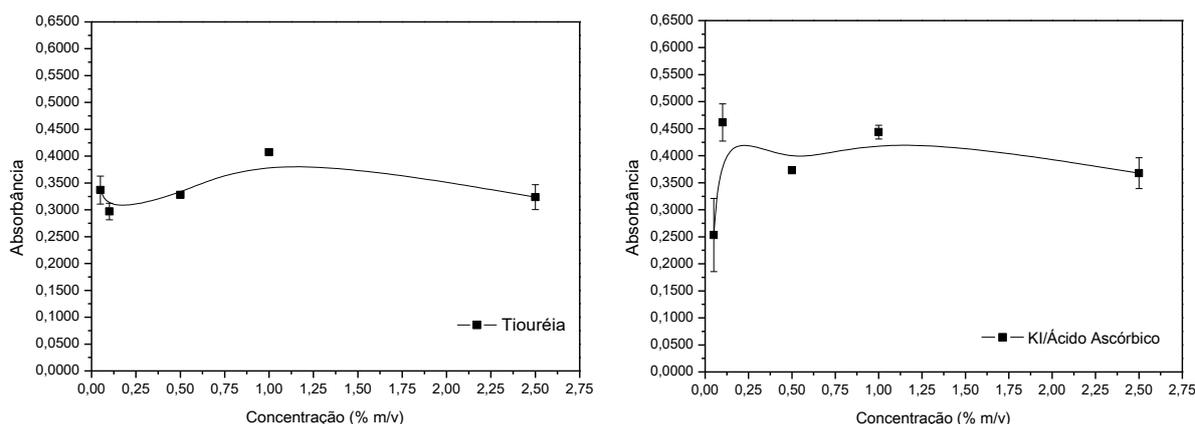


Figura 48. Representação individual dos resultados de cada pré-redutor.





Tal estudo consistiu em verificar a ação redutora desses reagentes em uma mistura equimolar das espécies As(III) e As(V), dos quais juntamente apresentaram concentração final de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Em média, os pré-redutores apresentaram certa eficiência, uma vez que grande parte dos resultados observados se enquadraram dentro da faixa de controle estabelecida entre os níveis inferior e superior.

A condição que mais se aproxima do controle estimado para uma redução quantitativa foi com o uso de cloridrato de hidroxilamina na concentração de 0,5% (m/v). Verifica-se também para este pré-redutor, que sua ação não compromete o equilíbrio da fração disponível da espécie As(III) no meio, sendo este então selecionado como o pré-redutor mais adequado para determinação de arsênio total em análise de especiação química deste trabalho.

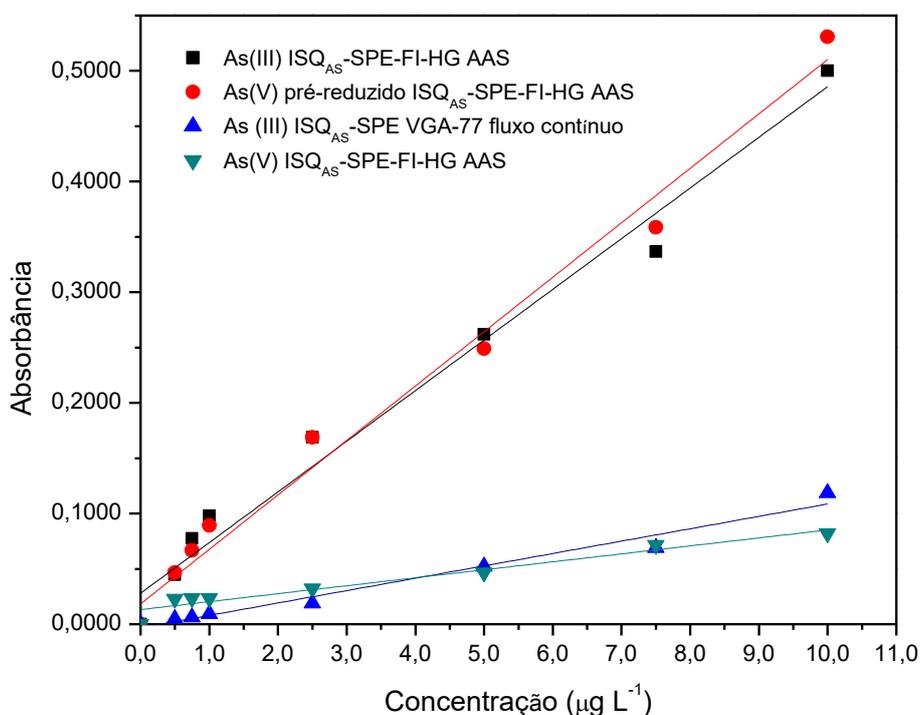
Embora o emprego do redutor L-cisteína tenha sido predominantemente reportado nas literaturas abordando especiação de arsênio, os resultados deste trabalho mostram que este não apresentou ação redutora quantitativa, uma vez que apresenta um perfil descendente do sinal em até 1,0% (m/v). Como a estrutura molecular da L-cisteína apresenta o grupo funcional tiol, este pode ter sido ativo na complexação da espécie As(III), tornando a mesma não disponível para o complexante APDC no momento da extração.

O uso da tiouréia como pré-redutor apresentou como limitação a baixa solubilidade do mesmo em solução aquosa, sendo necessária agitação a quente e em meio de ácido clorídrico. Essa condição pode ter provocado a perda de uma pequena parcela da quantidade de arsênio no meio por volatilização, levando a obtenção de sinais intermediários mais baixos. Já com relação ao emprego de KI em meio de ácido ascórbico, apesar das concentrações 0,1 e 1,0% (m/v) apresentarem magnitude de sinais um pouco mais razoáveis, foram observados a precipitação de iodo molecular. Este fato pode ter sido responsável no comprometimento de sinal mesmo após filtração, provavelmente pelas causas de interferências associadas a formação de As(III)-iodo no gerador (LOPEZ, TORRALBA, *et al.*, 1992).

A eficiência da ação redutora do cloridrato de hidroxilamina nas condições empregadas, pode ser confirmada baseando-se na comparação das curvas de calibração apresentadas pela Figura 49.

Tais calibrações foram construídas com as devidas espécies de As submetidas ao procedimento ISQ_{AS}-SPE nas condições otimizadas. Pode ser observada que as calibrações obtidas para As(III) e para As(V) previamente reduzido com cloridrato de hidroxilamina apresentaram sensibilidade semelhantes, confirmando que a etapa de pré-redução ocorre quantitativamente e possibilitando que a determinação total de As seja aplicada em finalidades de especiação química.

Figura 49. Curvas de calibração obtidas para As(III) e As(V) nas condições propostas do método ISQ_{AS}-SPE frente a ação redutora de cloridrato de hidroxilamina 0,5%(m/v) e em comparação com o sistema de fluxo contínuo VGA-77.



A espécie As(V) por sua vez, quando submetida as mesmas condições de extração, mas sem a etapa de pré-redução, não é extraída de forma satisfatória. Tais resultados reforçam mais uma vez a potencialidade do método em especiação de arsênio a ser aplicada para as pretensas amostras.

Foi realizado ainda nesta etapa do trabalho, uma calibração utilizando-se do módulo comercial VGA-77 para critérios de comparação frente ao método de determinação proposto. É notória a eficiência do sistema HG AAS em fluxo por zonas coalescentes em relação ao módulo comercial em fluxo contínuo, podendo se obter um ganho na sensibilidade de 4,1

vezes. É fato de que o emprego de um sistema de geração de vapor operando em fluxo contínuo, como é no caso deste módulo, provoca queda significativa da sensibilidade. A diluição excessiva ocasionada pela inserção contínua da solução redutora de NaBH_4 e de água na linha do ácido, acaba por anular o efeito pré-concentrador obtido após o procedimento de extração na alíquota final da amostra pré-tratada (digerida). Além disso, o consumo de reagentes e a geração de resíduos aumentam drasticamente, o que desqualifica o método frente aos padrões necessários para a conceituação de um método sustentável, apreciados pela Química Verde. Logo, o sistema FI-HG AAS por zonas coalescentes em multicomutação se adequa melhor ao método $\text{ISQ}_{\text{AS-SPE}}$ para extração e pré-concentração de As(III) , agregando valor a essas características.

As equações e o parâmetros que descrevem cada uma das respectivas curvas de calibração da Figura 51, estão representadas na Tabela 25.

Tabela 25. Parâmetros de calibração para as espécies de As submetidas ao procedimento $\text{ISQ}_{\text{AS-SPE}}$ frente as condições reportadas.

Condição de Trabalho	Equação de calibração	R
As(III) $\text{ISQ}_{\text{AS-SPE}}$ FI-HG AAS	$Abs = 0,04578 C_{\text{As(III)}} + 0,02798$	0,98798
As(V) pré-reduzido $\text{ISQ}_{\text{AS-SPE}}$ FI-HG AAS	$Abs = 0,04919 C_{\text{As(V)}} + 0,01844$	0,99140
As(III) $\text{ISQ}_{\text{AS-SPE}}$ VGA-77 fluxo contínuo	$Abs = 0,01118 C_{\text{As(III)}} - 0,00321$	0,98621
As(V) $\text{ISQ}_{\text{AS-SPE}}$ FI-HG AAS	$Abs = 0,00720 C_{\text{As(V)}} + 0,01317$	0,96891

5.2.7. Estudo da interferência de concomitantes

Com as condições de extração, pré-concentração e determinação de arsênio já devidamente otimizadas, partiu-se para o estudo do efeito das principais espécies que podem agir como interferentes na determinação do mesmo frente ao método desenvolvido. Foram selecionados para compor esse estudo os principais íons que podem estar presentes concomitantemente na matriz da amostra (Cd^{2+} , Mn^{2+} , Se total, PO_4^{3-} e SiO_4^{4-}), bem como a inclusão das espécies metiladas de arsênio MMA e DMA. Um dos critérios da escolha de tais interferentes foi baseado a partir dos elementos reportados no certificado do material de referência (IRMM-804), que será empregado posteriormente na etapa de validação do método.

Para representar uma situação real da amostra, dos quais os elementos concomitantes estão presentes simultaneamente, julgou-se mais apropriado um estudo multivariado a partir da construção de um planejamento fatorial fracionário 2^{7-3} de resolução IV. Os respectivos

níveis avaliados para cada interferente foram informados na Tabela 2 no item 2.2. Os resultados referentes a cada experimento foram expressos em função da absorbância e através do fator de interferência (FI), dos quais estão apresentados da Tabela 26.

Tabela 26. Matriz do planejamento fatorial fracionário 2^{7-3} (IV) para o estudo da interferência de concomitantes.

Exp.	MMA	DMA	Cd ²⁺	Mn ²⁺	Se _{total}	PO ₄ ³⁻	SiO ₄ ⁴⁻	Abs. média (n=3)	FI
1*	-	-	-	-	-	-	-	0,4897±0,0748	1,00
2	+	-	-	-	+	-	+	0,4403±0,0745	0,90
3	-	+	-	-	+	+	-	0,4231±0,0410	0,86
4	+	+	-	-	-	+	+	0,3324±0,0319	0,68
5	-	-	+	-	+	+	+	0,3132±0,0248	0,64
6	+	-	+	-	-	+	-	0,3220±0,0305	0,66
7	-	+	+	-	-	-	+	0,2630±0,0112	0,54
8	+	+	+	-	+	-	-	0,2821±0,0428	0,58
9	-	-	-	+	-	+	+	0,2255±0,0213	0,46
10	+	-	-	+	+	+	-	0,2600±0,0188	0,53
11	-	+	-	+	+	-	+	0,2550±0,0154	0,52
12	+	+	-	+	-	-	-	0,2386±0,0158	0,49
13	-	-	+	+	+	-	-	0,1917±0,0180	0,39
14	+	-	+	+	-	-	+	0,1887±0,0249	0,39
15	-	+	+	+	-	+	-	0,1958±0,0054	0,40
16	+	+	+	+	+	+	+	0,2237±0,0558	0,46

Absorbância média do branco no método ISQAS-SPE FI-HG AAS: 0,1014±0,0122

(*controle)

Diante dos resultados, a significância dos efeitos foi avaliada ao nível do 95% de confiança ($p>0,05$), podendo ser interpretados pelo gráfico de Pareto. Para auxiliar na elucidação dos interferentes considerando sua presença isolada, e também levando-se em consideração os efeitos de interação devida a presença simultânea dos mesmos, foi apresentado respectivamente nas Figuras 50 e 51 os gráficos de Pareto, sendo um somente

para os efeitos principais (relativo a ação individual de cada interferente) e outro contendo os efeitos de interação.

Figura 50. Gráfico de Pareto dos efeitos principais padronizados de cada interferente isolado, obtidos pelo planejamento fatorial fracionário 2^{7-3} (IV).

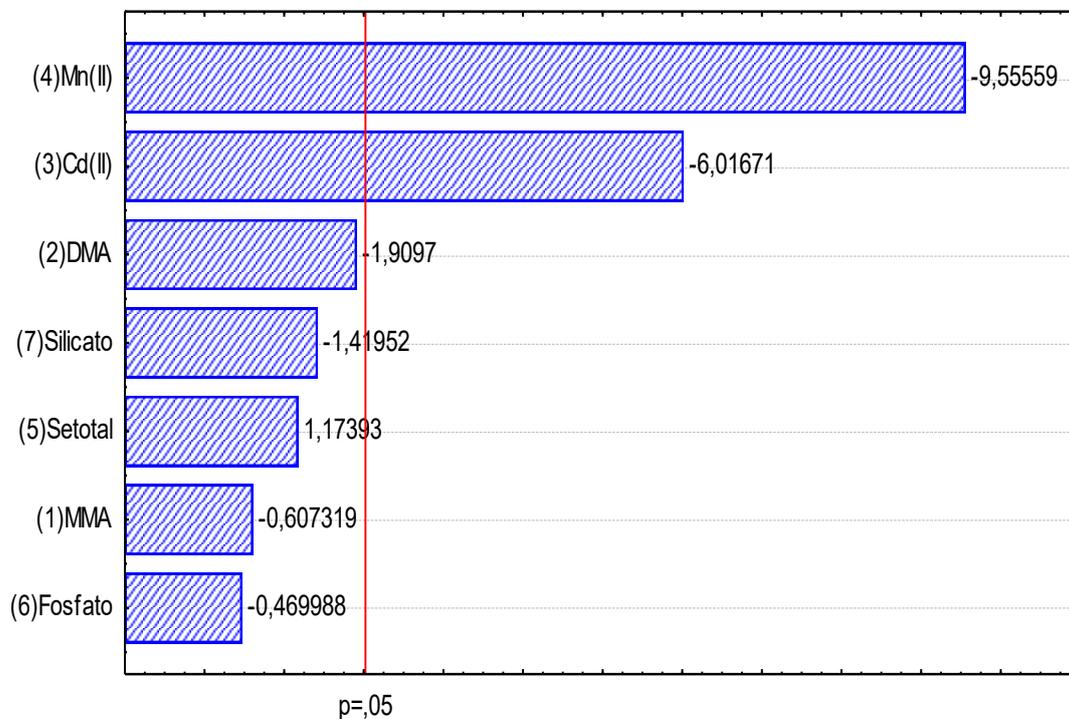
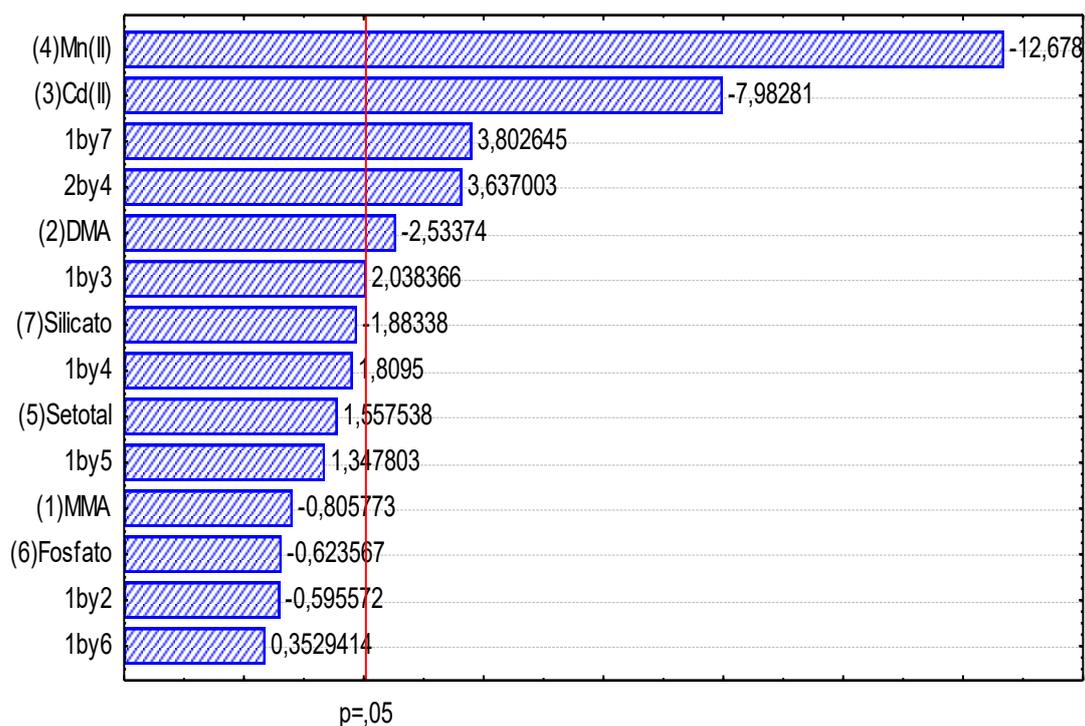


Figura 51. Gráfico de Pareto dos efeitos principais juntamente com os efeitos de interação padronizados dos interferentes, obtidos pelo planejamento fatorial fracionário 2^{7-3} (IV).



Os resultados apontam efeitos significativos de interferência negativa em todos os experimentos onde estão presentes os íons Cd^{2+} e Mn^{2+} , principalmente em relação a esse último. A presença de tais íons metálicos leva a uma condição de interferência, que ocasiona uma depreciação do sinal analítico do arsênio em até 60,8%. A interferência de metais de transição em sistemas de geração de vapor já é notoriamente conhecida quando associada aos fenômenos que a provocam em fase líquida. Essas interferências podem ser atribuídas principalmente a redução de tais metais pelo NaBH_4 em detrimento ao As(III) .

Rezende (2014), em seu trabalho de especificação de arsênio em amostras de fertilizantes fosfatados por meio da técnica HG AAS empregando módulo VGA-77, verificou a ocorrência de severas interferências provocadas por Ni^{2+} e Fe^{3+} . Entretanto, somente em proporções maiores ou iguais a 1:500 [As(III) :interferente] é que foram constatados comprometimento do sinal de As(III) (REZENDE, 2014).

Moretto (2001) observou interferência dos íons Fe^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Hg^{2+} , Se^{4+} , Sb^{5+} , Sb^{3+} , Sn^{2+} e Bi^{3+} , no desenvolvimento de um método para determinação de arsênio em amostras ambientais e de alimentos, pelo sistema FIA-HG AAS em uma configuração de zonas coalescentes. Verificou-se que as interferências em fase gasosa foram mais críticas. Para reduzir o efeito de tais interferências, foi utilizada uma solução de KI e ácido ascórbico [0,5:1,0% (m/v)] em meio de HCl 5,0 mol L^{-1} , obtendo recuperações acima de 90% (MORETTO, 2001).

A interferência em fase líquida ocasionada pelos íons Cd^{2+} e Mn^{2+} poderia ser explicada em razão da formação de complexos com APDC em competição com o As(III) . Entretanto, diferentemente para o arsênio, a formação desses complexos somente são favorecidas em valores de pH mais elevados, do qual se dispõe de uma fração disponível da espécie quelante desprotonada (BROOKS, PRESLEY e KAPLAN, 1967; BOSCO, VIGNADO e CARVALHO, 2006). O contra-íon fosfato também estava presente concomitantemente como interferente aniônico, podendo levar a formação de sais de baixa solubilidade com cádmio e manganês. Provavelmente, tais íons metálicos (Cd^{2+} e Mn^{2+}) puderam ser extraídos pela fase sólida na forma dos respectivos fosfatos.

Uma proposta para minimizar essa interferência, seria adicionar um agente mascarante como o EDTA, na forma de uma solução tamponada em pH adequado ($\approx 3-5$). Os complexos de EDTA com cádmio e manganês são bem mais estáveis em relação ao APDC, e essa diferença de afinidade pode prevenir contra a extração dos mesmos para a solução final da amostra, evitando o maior consumo de NaBH_4 (SKOOG, WEST, *et al.*, 2006).

Já interferências em fase gasosa não foram observadas, uma vez que os efeitos decorrentes de outras espécies que também são geradoras de hidretos, tais como MMA, DMA e selênio não foram significativos. Os resultados apontam para a seletividade do método, por ser um indicativo de que essas espécies não são extraídas durante o procedimento.

Percebe-se que a inclusão dos efeitos de interação no tratamento dos dados, faz com que a espécie DMA já passe a ser considerada como interferente mesmo que isoladamente. Entretanto esse efeito é menos intenso do que é verificado pela sua interação com Mn^{2+} . Essa interação revela uma ação sinérgica sobre o sinal analítico, sugerindo a formação de um composto estável do sal cacodilato de manganês que pode ter sido ocluído durante a formação da fase sólida.

Um efeito semelhante foi observado por meio da interação entre MMA e o ânion silicato. Esse sinergismo ocorre quando ambos os concomitantes estão numa faixa de concentração de 1,0 até 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, indicando que tal fato não chega a ser crítico, uma vez que as espécies metiladas MMA e DMA raramente são encontradas nas amostras de interesse nessas proporções. Nas condições em que uma destas espécies possa ser detectada, propõe-se um procedimento de *clean-up*, do qual a amostra possa percolar um cartucho ou uma coluna suportada em uma resina de troca aniônica (como por exemplo Amberlite IRA-420) em pH devidamente ajustado com a finalidade de reter o interferente.

A ocorrência de efeitos de interação que caracterizam interferências positivas no sinal analítico, podem ser decorrentes de inúmeras reações de dissociação e associação responsáveis pelo mecanismo de atomização do elemento de interesse. Esse sinergismo, também pode ser interpretado como uma interferência causadora de sinais analíticos superestimados. Geralmente esse fato está mais associado com a absorção molecular de fundo que não foi devidamente corrigida, bem como a presença de interferentes metálicos, que podem formar compostos termicamente estáveis com o analito (SKOOG, 2002; ARAÚJO, 2009).

5.3. PARTE III: Estudo complementar envolvendo as espécies metiladas de arsênio e Aplicação do Método

5.3.1. Determinação seletiva das espécies MMA e DMA

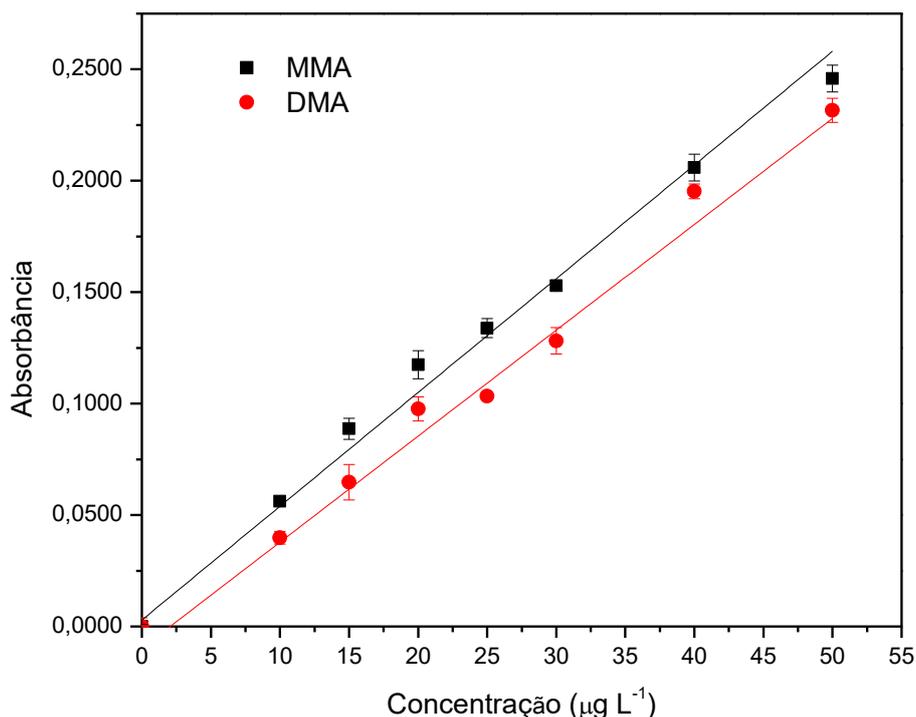
A motivação em verificar a determinação das espécies metiladas de arsênio é devido ao fato de que esses compostos também são a base dos principais herbicidas empregados no cultivo de algumas lavouras, dos quais podem ser citados o sal cacodilato de sódio, derivado do DMA e o sal metano arsenato ácido monossódico (MSMA), derivado do MMA.

De acordo com o Fluxograma das etapas propostas para separação não-cromatográfica das espécies de arsênio (Figura 10), as espécies metiladas MMA e DMA não são extraídas pelo método ISQ_{AS}-SPE e permanecem na fase aquosa. O sobrenadante contendo as espécies metiladas foi então submetido a uma nova leitura por HG AAS, do qual

mediante controle de pH e do meio redutor, se torna possível a determinação seletiva de uma das espécies metiladas em detrimento da outra.

A princípio foram construídas curvas analíticas de calibração utilizando MMA e DMA para verificar o comportamento da determinação dessas espécies através das suas respectivas conversões aos hidretos voláteis. As curvas estão apresentadas na Figura 52.

Figura 52. Curvas analíticas de calibração para as espécies MMA e DMA por HG AAS. Condições preliminares: NaBH₄ 0,5% (m/v) e HCl 1,0 mol L⁻¹.



As equações de calibração e os coeficientes de determinação para o ajuste linear das curvas são apresentadas na Tabela 27.

Tabela 27. Parâmetros de calibração obtidos para as espécies MMA e DMA nas condições iniciais.

Espécie metilada	Equação de calibração	R ²
MMA	$Abs = 0,0049 C_{MMA} + 0,0097$	0,9929
DMA	$Abs = 0,0047 C_{DMA} - 0,0047$	0,9906

Como pode ser observado, as condições inicialmente empregadas para geração dos hidretos de MMA e DMA não possibilita a diferenciação entre as espécies. A geração de hidretos das espécies metiladas de arsênio também ocorre por um mecanismo similar ao que se verifica para as reações com As(V). Em altas concentrações de HCl, a etapa de redução

das espécies $\text{MMA}^{(V)}$ e $\text{DMA}^{(V)}$ a $\text{MMA}^{(III)}$ e $\text{DMA}^{(III)}$ com NaBH_4 é favorecida para posterior evolução a CH_3AsH_2 e $(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$ respectivamente, pois em meios de pH fortemente ácidos tais espécies encontram-se protonadas e eletricamente neutras.

O ajuste de pH do sobrenadante é de fundamental importância para que uma das espécies se manifeste negativamente carregada. Dessa forma a reação de redução com BH_4^- fica inibida, devido a repulsão das cargas negativas. Para tanto, torna-se necessário conhecer a composição do meio, mediante as frações das espécies MMA e DMA disponíveis em função do pH, dos quais são apresentadas respectivamente nas Figuras 53 e 54.

Figura 53. Gráfico de distribuição das espécies do ácido monometil arsênico (MMA) em função do pH, ilustrando a estrutura das espécies protonada (linha azul), parcialmente desprotonada (linha vermelha) e desprotonada (linha amarela). Extraído de <https://chemicalize.com/#/calculation>. Acesso em 12/04/2017.

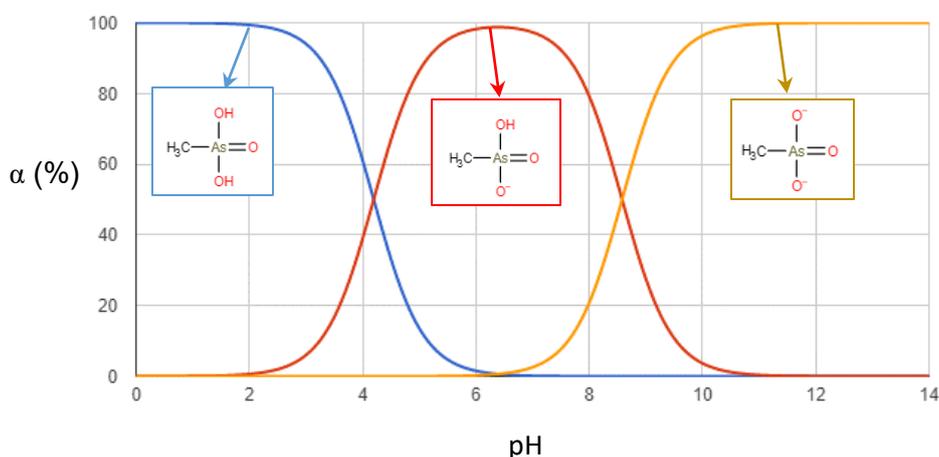
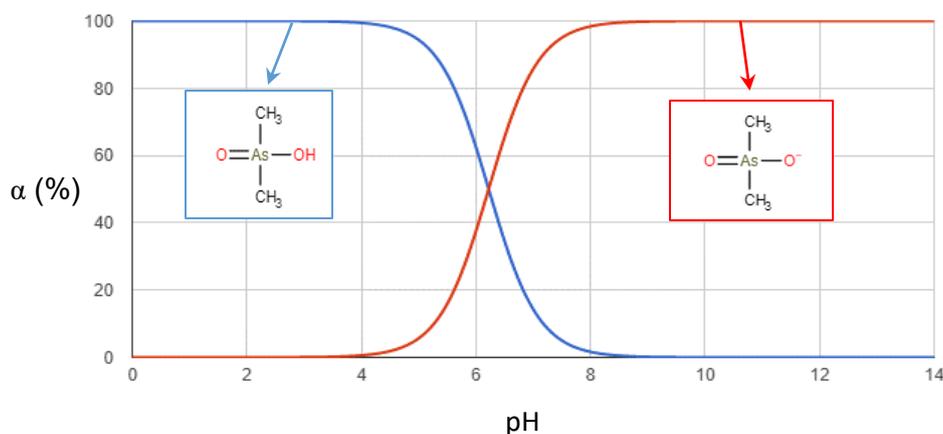


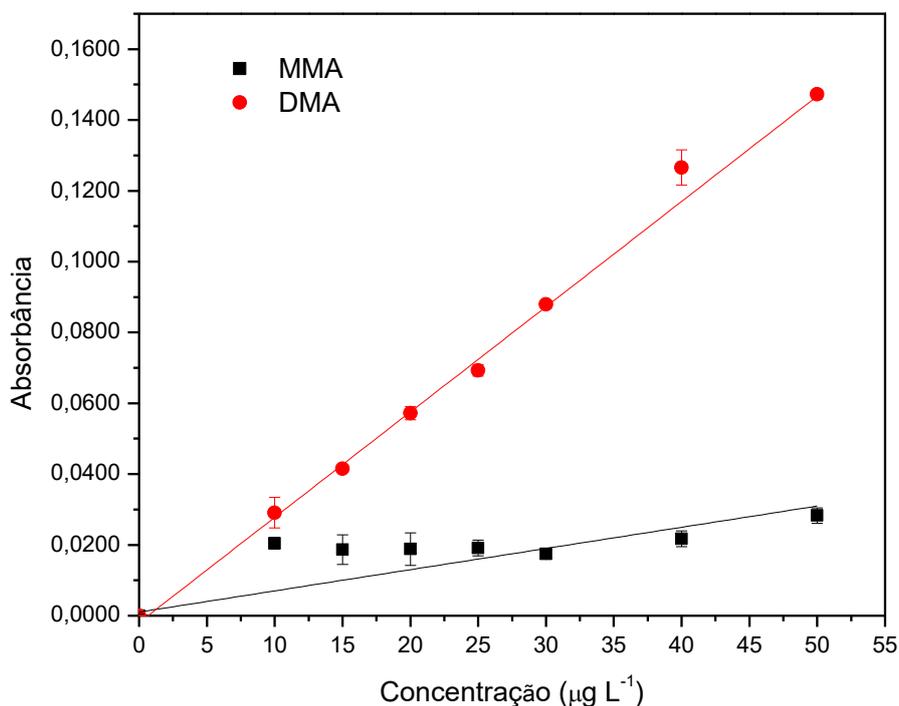
Figura 54. Gráfico de distribuição das espécies do ácido dimetil arsênico (DMA) em função do pH, ilustrando a estrutura das espécies protonada (linha azul) e desprotonada (linha vermelha). Extraído de <https://chemicalize.com/#/calculation>. Acesso em 12/04/2017.



Os gráficos apontam uma condição promissora para separação das espécies. Verifica-se que em pH 5,0, a espécie MMA se apresenta majoritariamente dotada de carga negativa (numa fração de aproximadamente 86,43%), enquanto que cerca de 94% da espécie DMA encontra-se neutra.

Para tanto, foram construídas novas curvas analíticas para MMA e DMA, em que a linha correspondente a solução de HCl 1,0 mol L⁻¹ no sistema HG AAS foi substituída por solução tampão acetato 0,5 mol L⁻¹ de pH 5,0. Tais curvas estão apresentadas na Figura 55.

Figura 55. Curvas analíticas de calibração para as espécies MMA e DMA por HG AAS em meio de tampão acetato pH 5,0 e NaBH₄ 0,5% (m/v).



As equações de calibração e os coeficientes de determinação para o ajuste linear das curvas são apresentadas na Tabela 28.

Tabela 28. Parâmetros de calibração obtidos para as espécies MMA e DMA em meio tamponado a pH 5,0.

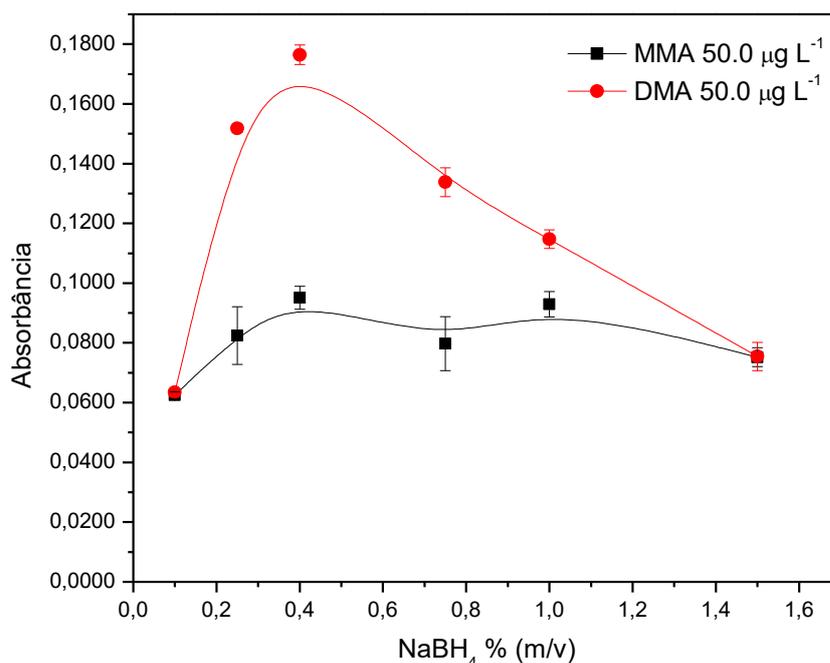
Espécie metilada	Equação de calibração	R ²
MMA	$Abs = 0,0004 C_{MMA} + 0,0088$	0,6145
DMA	$Abs = 0,0030 C_{DMA} - 0,0023$	0,9947

Os resultados demonstram que o acidez da solução sobrenadante ajustada com tampão acetato a pH 5,0 no sistema de determinação HG AAS é capaz de promover a quantificação de DMA, ao mesmo momento em que não se verifica sensibilidade para a

determinação significativa de MMA nessa mesma condição. Isso acontece, devido ao fato de que nesse pH a espécie MMA encontra-se na forma aniônica, não se tornando reativa com o redutor BH_4^- .

Foi verificado ainda nessa condição a influência da variação da concentração da solução redutora NaBH_4 para ambas as espécies metiladas.

Figura 56. Estudo da variação da concentração de NaBH_4 sobre a determinação das espécies MMA e DMA por HG AAS em meio tamponado a pH 5,0.



De acordo com a Figura 60, empregando-se NaBH_4 a 0,4% (m/v) aprimora-se o sinal analítico da espécie DMA, entretanto com interferência de aproximadamente 54% da espécie MMA. Este fato não chega a se tornar um problema, considerando-se a ausência do MMA em amostras reais de arroz. Conforme relatado em outros trabalhos, a espécie MMA não é comumente detectado no arroz, até mesmo após as suas principais formas de beneficiamento (J.-H.HUANG, P.FECHER, *et al.*, 2012).

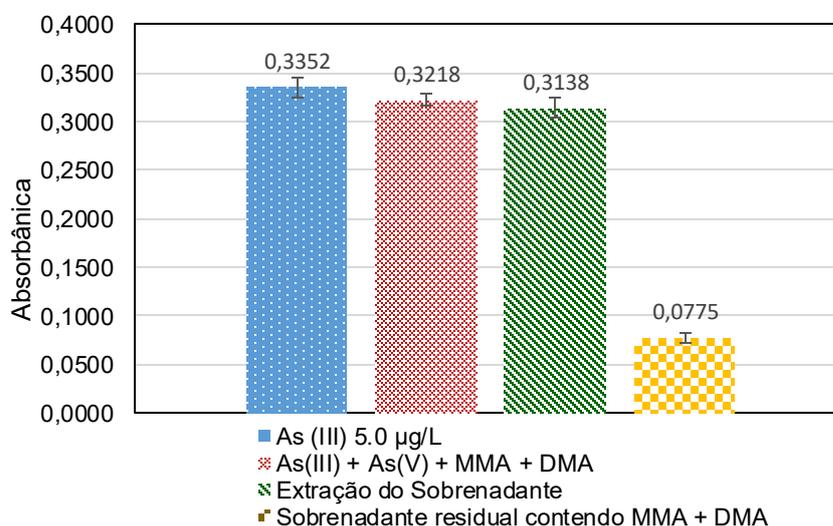
Em um estudo realizado pela *Food and Drug Administration* (FDA), em 1300 amostras de arroz e produtos relacionados analisados, em 97% das amostras a concentração de MMA detectada foi inferior a 13 ng g^{-1} , e somente 1% das amostras a concentração da espécie era na faixa de $20\text{-}30 \text{ ng g}^{-1}$ (FDA. Food and Drug Administration). Em outro estudo, de 32 amostras de arroz analisadas, oriundas de diferentes países, o MMA foi detectado somente em 13 delas, sendo a concentração máxima encontrada de $7,2 \text{ ng g}^{-1}$ (CHIBA, 2010).

5.3.2. Aplicação do Método

5.3.2.1. Estudo de Interconversão das espécies de arsênio

Devido a possibilidade de interconversão das espécies de arsênio tanto inorgânicas quanto as metiladas durante o preparo das amostras utilizando Universal[®], uma solução mista contendo uma mistura de As(III) 5,0 µg L⁻¹ + As(V) 5,0 µg L⁻¹ + MMA 20,0 µg L⁻¹ + DMA 20,0 µg L⁻¹ foi preparada e analisada após ser submetida em contato o solubilizador alcalino. Os resultados estão apresentados na Figura 57.

Figura 57. Estudo de preservação das espécies de As sob influência do reagente Universal[®] nas condições otimizadas do método ISQ_{AS}-SPE-FI HGAAS.

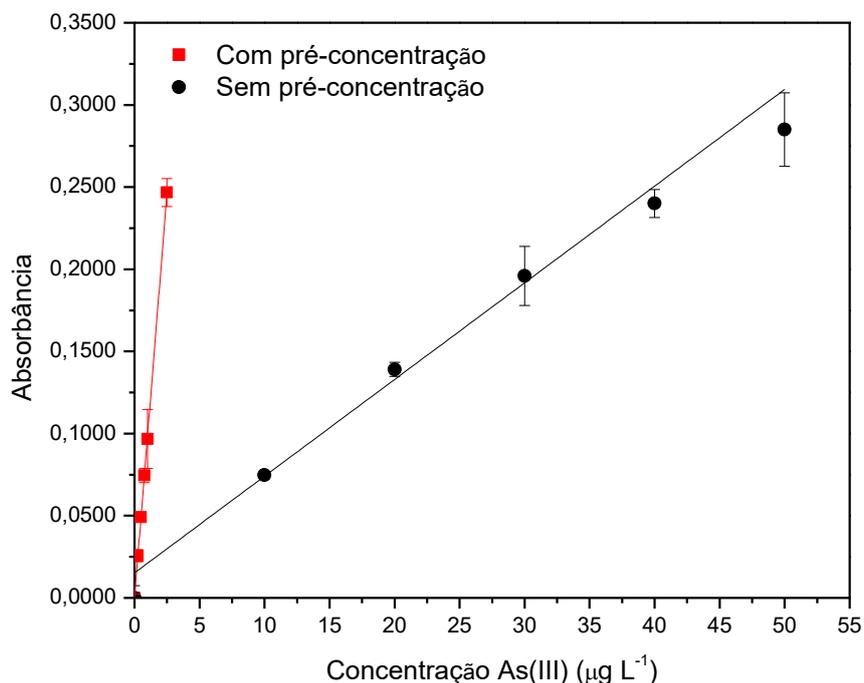


Pode ser observado que não houve alteração significativa no estado de oxidação das espécies de arsênio inorgânico quando submetidas ao procedimento de extração. Verifica-se também que as espécies metiladas não são retidas pela fase sólida extratora, permanecendo no sobrenadante. Os resultados indicam que o método mantém a integridade das espécies, com potencialidades para aplicação em especificação não-cromatográfica de arsênio.

5.3.2.1. Figuras de Mérito

O desempenho analítico do método desenvolvido foi verificado através dos principais parâmetros de validação. O aumento de sensibilidade alcançado com o método proposto pode ser avaliada por meio do fator de pré-concentração. Para tanto, a Figura 58 apresenta as curvas de calibração para soluções de As(III) obtidas com o procedimento de extração e pré-concentração por ISQ_{AS}-SPE e também sem ser submetida a esse procedimento.

Figura 58. Curvas de calibração para As(III) com o procedimento pré-concentração pelo método proposto e sem o procedimento de pré-concentração.



As equações de calibração e os coeficientes de determinação para o ajuste linear das curvas de calibração são apresentadas na Tabela 29.

Tabela 29. Parâmetros de calibração obtidos para as calibrações com e sem pré-concentração.

Curva	Equação de calibração	R ²
Com Pré-concentração	$Abs = 0,09858 C_{As(III)} + 0,00014$	0,9989
Sem Pré-concentração	$Abs = 0,00588 C_{As(III)} + 0,0152$	0,9847

A razão das inclinações das curvas de calibração com e sem pré-concentração resultam em um fator de pré-concentração de 16,76. Esse ganho na sensibilidade já permite obter limites de detecção e quantificação que garantem a aplicação do método na determinação segura de arsênio dentro do valor tolerado pela legislação vigente.

A exatidão do método desenvolvido foi verificado através da concentração de arsênio total presente no material certificado IRMM-804 *Rice Flour* (Anexo C), o qual foi analisado de acordo com o procedimento de solubilização alcalina com Universol®, seguida da aplicação do método ISQ_{As}-SPE FI-HG AAS. Os resultados estão apresentados na Tabela 30.

Tabela 30. Avaliação da exatidão do método proposto, empregando material de referência certificado de farinha de arroz.

Material Certificado	Valor Certificado (mg Kg ⁻¹)	Método Proposto ^a		
		As (III) (mg Kg ⁻¹)	DMA (mg Kg ⁻¹)	As total (mg Kg ⁻¹)
IRMM-804	0,049±0,004	0,043±0,004 ^b	ND ^c	0,045±0,007 ^d

^a Valores médios de 3 extrações independentes

^b Absorbância média para uma massa de 0,1511 g de CRM: 0,0106±0,0077.

^c Não detectado

^d Absorbância média para uma massa de 0,1511 g de CRM: 0,0136±0,0075.

O resultado para concentração total de arsênio foi comparado através do teste de hipótese (*t* de Student) para avaliar a diferença entre o valor obtido experimentalmente e o valor tabelado ao nível de 95% de confiança. Como foi verificado um valor de $t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$, pode-se afirmar que os valores são concordantes entre si, confirmando a viabilidade analítica do método proposto, com 92,33% de exatidão.

A Tabela 31 apresenta as figuras de mérito obtidas para validação bem como os parâmetros de eficiência do método desenvolvido de extração e pré-concentração de As (III) por ISQ_{AS}-SPE FI-HG AAS.

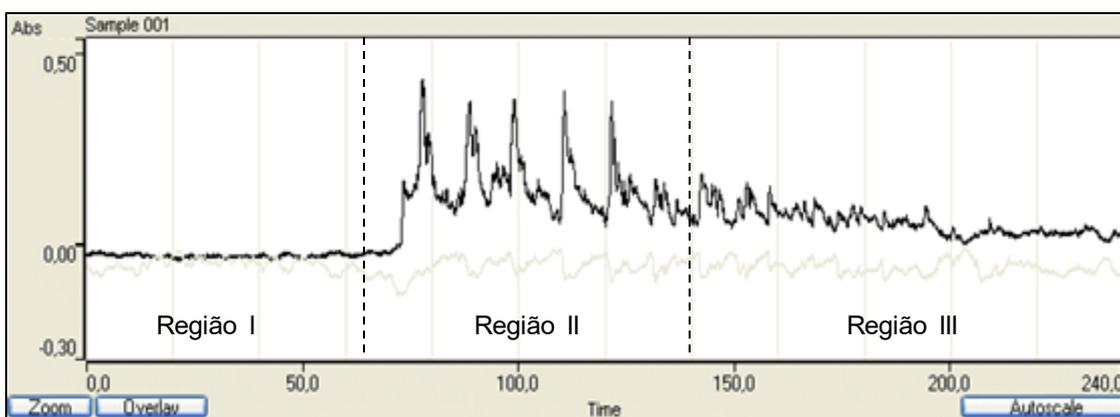
Tabela 31. Figuras de mérito e parâmetros de eficiência obtidos para o método proposto.

Parâmetro	As (III)		DMA	
	µg L ⁻¹	µg g ⁻¹	µg L ⁻¹	µg g ⁻¹
FT (µg L ⁻¹)	LQ – 2,5		LQ – 50,0	
<i>R</i> ²	0,9989		0,9947	
<i>m</i>	0,09858		0,0030	
LD	0,04	0,01	0,46 µg L ⁻¹	0,15
LQ	0,12	0,04	1,55 µg L ⁻¹	0,51
FPC	16,76		---	
EC (min ⁻¹)	8,35		---	
IC (mL)	0,596		---	
FE	5,87		---	
CV (%)	5,49		---	
EE (%)	88,18		---	
<i>P</i>	0,88		---	
<i>f</i> (amostras h ⁻¹)	30		---	
GR (mL)	0,69		---	

FT: Faixa linear de trabalho; *R*: Coeficiente de correlação; *m*: Sensibilidade; LD: Limite de Detecção; LQ: Limite de Quantificação; FPC: Fator de pré-concentração; EC: Eficiência de concentração; IC: Índice de consumo; FE: Fator de enriquecimento; CV: Coeficiente de variação (C=10,0 µg L⁻¹; n=10,0); EE: Eficiência de extração ou recuperação; *P*: Fator de Transferência de Fase; *f*: frequência analítica; GR: Geração de resíduo.

A precisão foi determinada a partir de 10 medidas de uma solução de As(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, com a obtenção de um coeficiente de variação próximo ao limite tolerado para que o método seja considerado preciso, que é de 5% (ANVISA, 2003). Para melhor representar a precisão obtida, a Figura 59 apresenta o perfil de sinais transientes registrados pela altura de pico, para a introdução de uma amostra submetida ao método de extração e pré-concentração proposto no sistema FI-HG AAS.

Figura 59. Sinais transientes obtidos para a introdução completa de uma amostra simulada por uma solução padrão de As(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ após procedimento ISQAS-SPE durante o percurso completo no sistema FI-HG AAS. _____ sinal analítico, _____ sinal de fundo (*background*).



Observa-se que o perfil dos sinais transientes é característico de um diagrama, no qual a zona da amostra se dispersa de forma controlada a formar picos que representam os sinal analítico de resposta. O perfil apresenta 3 regiões distintas, dos quais podem ser descritas da seguinte forma:

Região I: Tempo de espera de aproximadamente 60,0 a 75,0 segundos. Tempo em que ocorre o processamento da reação durante o percurso no sistema FIA;

Região II: Região de interesse analítico. Momento onde ocorre a detecção do arsênio pela atomização de AsH_3 gerado no sistema e representado por sinais transientes (altura de pico);

Região III: Limpeza do sistema pela solução carreadora e retorno à linha base até o processamento da próxima amostra.

A cada amostra podem ser tomadas cerca de 5 determinações até que o sinal retorne a linha base para o processamento da próxima da amostra. Nesse sentido, tornou-se possível controlar a aquisição das leituras, conciliando o tempo de limpeza e retorno a linha base de uma amostra, ao mesmo tempo em que a próxima está sendo introduzida no sistema. Dessa forma, em aproximadamente um minuto estarão ocorrendo simultaneamente as etapas I e III, seguido do registro dos sinais analíticos. Assim, tem-se o processamento completo de uma amostra a cada 2 minutos, resultando numa frequência analítica de 30 amostras por hora.

A eficiência de enriquecimento não está necessariamente associado a um elevado fator de pré-concentração. Um sistema pode exibir alto FPC, mas exigir um longo tempo para o enriquecimento da ordem de dezenas de minutos ou até mesmo horas, levando ao consumo excessivo de amostra. Apesar da eficiência de concentração ter aplicação mais útil em procedimentos *on-line*, a eficiência do método ISQ_{AS}-SPE para pré-concentração de arsênio pode ser atestada, uma vez que fornece resultados considerados satisfatórios levando em consideração que a eficiência de concentração geralmente obtidos para procedimentos em batelada comumente se aproximam de 4,0 (TARLEY, 2004; FANG, 1993).

O índice de consumo é outro fator importante que demonstra a eficiência do método, sendo necessários apenas 0,6 mL de amostra para uma unidade de pré-concentração. A pequena quantidade de resíduo gerada também é uma característica de destaque promissora para que o método possa ser enquadrado em critérios de sustentabilidade, desejados para a promoção do conceito de Química Verde.

A Tabela 32 traz um levantamento de alguns trabalhos sobre determinação de As nos mais diversos tipos de amostras, publicados nos últimos dez anos. Os limites de detecção e quantificação aqui obtidos são capazes de fornecer garantia analítica, uma vez que o método desenvolvido neste trabalho pode ser aplicado eficientemente na determinação de arsênio em amostras de arroz ou em matrizes derivadas com constituição similares. O método também apresenta características comparáveis e aprimoradas em relação ao consumo de reagentes e amostra, com reduzido número de experimentos para otimização em relação aos que foram reportadas, representando uma contribuição no estado da arte de determinação de arsênio, no que tange a simplificação de procedimentos de separação não-cromatográfica das espécies.

Tabela 32. Comparação das características analíticas entre os métodos de determinação de arsênio e o método proposto.

Espécie	Método	Técnica de Detecção	FPC	CV (%)	LD	Referência
As(III) e As(V)	CPE ^a	HG AFS	9,3 pra As(III) 7,9 para As(V)	2,1 – 2,3	0,009 µg L ⁻¹ para As(III) 0,012 µg L ⁻¹ para As(V)	LI, WANG, <i>et al.</i> , 2015
As (V) e As total	CPE	UV-Vis	5,0	1,2	1,0 µg L ⁻¹	(KUMAR e PANDURANGAPPA, 2012)
As(V) e As total	BDES ^b	ETAAS	4,8	3,0 – 7,0	0,35 µg L ⁻¹	COELHO, COELHO, <i>et al.</i> , 2007
As total	nano-partículas de Ce magnéticas	HG-ICP OES	19	2,9	0,15 µg L ⁻¹	DADOS, KARTSIOULI, <i>et al.</i> , 2014
As(V) e As total	MSPE (Fe ₃ O ₄ /Mg-Al LDH) ^c	Quimioluminescência	80	0,85 – 2,17	0,002 µg L ⁻¹	ABDOLMOHAMMAD-ZADEH e TALLEB, 2014)
As(III) e As total	Extração por ultrassom	HG AAS (VGA-77 fluxo contínuo)	Não definido	1,94 – 3,36	0,029 µg Kg ⁻¹ para As(III) 0,022 µg Kg ⁻¹ para As (V)	REZENDE e COELHO, 2014
As(III) e As total	DLLME-SFO ^d	GF AAS	1550	6,8	0,0025 µg L ⁻¹	SHAMSIPUR, FATTAHI, <i>et al.</i> , 2014
As(III) e As total	UAISF-SPE ^e	ETAAS	100	4,5	0,007 µg L ⁻¹	EZODDIN, MAJIDI e ABDI, 2015
As total	HPL ^f	HR-CS-HG AAS	Não definido	1,0 – 3,0	0,09 µg L ⁻¹	HESSE, RISTAU e EINAX, 2015
As(V) e As total	IP-CPE ^g	UV-Vis	65	1,6 – 5,1	1,14 µg L ⁻¹	GÜRKAN, KIR e ALTUNAY, 2015
As total	SPE (MgO cristais)	GF AAS	13	4,5	0,087 µg L ⁻¹	QIANG, YU ZHUANNI A e LIU AIFENG B, 2017
As(III), As inorgânico total e As total	Extração e geração seletiva de hidretos	HG-AAS (FIAS-100)	Não definido	Não informado	0,08 µg L ⁻¹ para As(III) 0,14 µg L ⁻¹ para iAs total 0,17 µg L ⁻¹	SANTOS, POZEBON, <i>et al.</i> , 2017
As total	Extração por ultrassom	FI-HG AAS	Não definido	< 5,0	1,9 µg L ⁻¹	BENTLIN, DRESSLER e POZEBON, 2007
As(III) e As total	ISQAS-SPE	FI-HG AAS	16,76	5,49	0,01 µg g ⁻¹ para As (III) 0,15 µg g ⁻¹ para DMA	Este Trabalho

^a Extração por Ponto Nuvem; ^b *Eletrostacking* Bidirecional; ^c Extração em fase sólida magnética em hidróxido duplo lamelar; ^d Microextração líquido-líquido dispersiva baseada na solidificação de gota suspensa; ^e Extração em fase sólida com formação de sorvente *in-situ* assistido por ultrassom; ^f Fluxo de injeção líquida em alta pressão; ^g Extração por Ponto Nuvem com pareador iônico.

6. CONCLUSÃO

O método desenvolvido revela-se como uma contribuição significativa ao encorajamento da análise de especiação de arsênio em amostras de arroz sem a necessidade de se recorrer a uma separação cromatográfica. O método se mostra promissor para o incentivo de formulações que discriminem as espécies de arsênio em amostras de alimentos, dos quais ainda não se dispõe oficialmente na legislação.

O procedimento de extração em fase sólida baseada na formação do sal de amônio quaternário *in-situ* (ISQ_{AS}-SPE) é simples e possibilita a análise de especiação química de arsênio, com exatidão e precisão aceitáveis e com detectabilidade satisfatória. O processo ocorre através da extração seletiva da espécie As(III) na forma do complexo neutro com APDC: [As(PDC)₃] para a fase sólida extratora.

A fase sólida é constituída do sal perclorato de tetra-*n*-butilamônio e apresenta propriedades adsorptivas que refletem características desejáveis para serem empregadas na finalidade de extração. A estrutura é composta por partículas irregulares com dimensionamento predominantemente micrométrico e expressiva área superficial específica (146,14 cm² g⁻¹). A fase sólida pode ser lixiviada em pequenos volumes de solução ácida dispensando o uso de solventes orgânicos de alta toxicidade. Tais características tornam o método desenvolvido atrativo frente aos procedimentos de extração convencionalmente empregados.

As melhores condições de extração e pré-concentração de As(III) por ISQ_{AS}-SPE e determinação por FI-HG AAS foram possíveis de serem obtidas mediante emprego de ferramentas quimiométricas para otimização multivariada. Tais ferramentas forneceram informações essenciais sobre intra e inter-efeitos e sua significância, com reduzido número de experimentos, possibilitando a diminuição de tempo, custos e resíduos.

O sistema FI-HG AAS por zonas coalescentes em multicomutação se mostrou compatível para a determinação sensível de As(III) no meio extrator, sem comprometer o efeito de pré-concentração. O sistema foi capaz de proporcionar melhorias na detectabilidade, aprimorando o sinal analítico em um fator de ≈ 17 vezes com baixo consumo de amostra e reagentes.

O método ISS_{AQ}-FI-HG AAS, pôde ser validado, com alcance de limites de detecção e quantificação prontamente aplicáveis para a determinação das espécies inorgânicas de arsênio em amostras de arroz e em matrizes de constituição similar, em concordância com os valores normatizados. O método apresenta potencialidades promissoras, cujas características podem ainda ser aprimoradas frente as propostas lançadas para as pretensões futuras, fazendo com que o método apresente contribuição significativa para o desenvolvimento de métodos mais simples, acessíveis e sustentáveis.

7. PRETENSÕES FUTURAS

Futuramente, tem-se a perspectiva de automação completa do método ISQ_{AS}-SPE em um sistema de análise por injeção em fluxo com determinação *on-line*. Desta forma, tem-se melhor repetibilidade de formação da fase sólida e eluição do analito, em relação ao procedimento em batelada, permitindo o acoplamento a várias técnicas de detecção tais como FAAS (para aplicação na extração de metais pesados como Cd, Cr, Pb, Mn, Ni, etc.), HG AAS (para aplicação visando especiação química de Se, Sb e Sn), bem como também em métodos potenciométricos e voltamétricos. Para tanto, deve-se vencer o desafio do acúmulo e dispersão da fase sólida no interior dos tubos que promovem o fluxo de amostras e reagentes no sistema, que podem provocar instabilidade por aumento da impedância hidrodinâmica.

Conciliar o método de extração desenvolvido neste trabalho em procedimentos de catálise de transferência de fase, no intuito de promover a ocorrência de reações com substratos orgânicos à medida que os analitos são extraídos. Alguns sais de amônio quaternário, também podem atuar como modificadores de matriz em determinação elementares por ETAAS. Então surge a proposta de se empregar o meio extrator enriquecido com o analito para que, no momento da determinação, também atue como modificador em fornos de grafite.

Uma outra ideia que ainda não tem sido explorada frente a esse método, seria empregá-lo em finalidades analíticas na extração direta de moléculas de baixa polaridade, como alguns fármacos, produtos naturais ou contaminantes emergentes para detecção espectrofotométrica, eletroquímica e/ou cromatográfica.

Estabelecer rotas de síntese mais eficientes da formação da fase sólida de forma a controlar as características estruturais, sem comprometer sua simplicidade de execução e o fato de promover a extração *in-situ*. Tem-se como proposta a formação de nano-partículas do micro-sorvente que podem promover aumento significativo nas taxas de extração decorrentes maior área superficial, dos quais podem ser desenvolvidas em parceria com grupos de pesquisa voltados ao desenvolvimento de materiais, promovendo a interdisciplinaridade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLMOHAMMAD-ZADEH, H.; TALLEB, Z. Speciation of As(III)/As(V) in water samples by a magnetic solid phase extraction based on Fe₃O₄/Mg–Al layered double hydroxide nano-hybrid followed by chemiluminescence detection. **Talanta**, 128, 2014. 147-155.

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.04.070>

ABEDIN, M. J.; FELDMANN, J.; MEHARG, A. A. Uptake Kinetics of As species in rice plants. **Plant Physiology**, 128, 2002. 1120-1128. <https://doi.org/10.1104/pp.010733>

AGTERDENBOS, J.; BAX, D. Mechanism in hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, 323, 1986. 783-787.

<https://doi.org/10.1007/BF00467076>

AGTERDENBOS, J.; BAZ, D. Mechanisms in hydride generation atomic absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 323, 1986. 783-787.

<https://doi.org/10.1007/BF00467076>

ALMEIDA, I. L. S. **Desenvolvimento de um método aplicado à determinação de mercúrio em amostras de álcool combustível e solos por geração de vapor frio e espectrometria de absorção atômica**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, p. 143. 2014.

ALVES, V. N. et al. Determination of inorganic arsenic in natural waters after selective.

Ecological Engineering, 106, 2017. 431-435. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.06.007>

AMARAL, C. D. B.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Sample preparation for arsenic speciation in terrestrial. **Talanta**, 115, 2013. 291-299.

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.04.072>

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003. [S.l.], p. 12. 2003.

APOSHIAN, H. V.; APOSHIAN, M. M. Arsenic toxicology: five questions. **Chemical Research in Toxicology**, 19, 2006. 1-15. <https://doi.org/10.1021/tx050106d>

ARAÚJO, C. S. T. **Desenvolvimento de metodologia analítica para extração e pré-concentração de Ag(I) utilizando a Moringa oleifera Lam**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, p. 186. 2009.

BADILLO ALMARAZ, V.; TROCELLIER, P.; DÁVILA RANGEL, I. Adsorption of aqueous Zn(II) species on synthetic zeolites. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research**, 210, 2003. 424-428. [https://doi.org/10.1016/S0168-583X\(03\)01063-2](https://doi.org/10.1016/S0168-583X(03)01063-2)

BARBOSA, A. F. et al. Solid-phase extraction system for Pb(II) ions enrichment based on multiwall carbon nanotubes coupled on-line to flame atomic absorption spectrometry.

Talanta, 71, 2007. 1515-1519. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.07.026>

BARBOSA, L. C. D. A. **Espectroscopia no Infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: UFV, 2007. 189 p.

BARROS NETO, B. D.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos**. 3. ed. Campinas: Fundação de Desenvolvimento da Unicamp, 2007. 480 p.

BARRET, E. P.; JOYNER, L. G.; HALENDA, P. P. The determination of pore volume and area distribution in porous substances. **Journal of the American Chemical Society**, 90, 1951. 373-380. <https://doi.org/10.1021/ja01145a126>

- BASAGLIA, A. M. **Síntese e caracterização de um polímero impresso com complexo metálico (Pb-PAN) e seu uso para pré-concentração on-line de Pb²⁺ e determinação por FAAS**. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Londrina. [S.I.], p. 118. 2016.
- BATISTA, B. L. **Desenvolvimento de métodos rápidos de preparo de amostras para especiação química de arsênio em alimentos por LC-ICP-MS e avaliação das concentrações do metabolismo em arroz**. Tese de Doutorado - Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, p. 179. 2012. <https://doi.org/10.11606/T.60.2012.tde-26092012-103407>
- BATISTA, B. L. et al. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. **Journal of Hazardous Materials**, 191, 2011. 342-348. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.04.087>
- BENTLIN, F. R. S.; DRESSLER, F. A. D. V. L.; POZEBON, D. Arsenic Determination in Marine Sediment Using Ultrasound for Sample Preparation. **ANALYTICAL SCIENCES SEPTEMBER**, 23, 2007. 1097-1101. <https://doi.org/10.2116/analsci.23.1097>
- BEZERRA, M. A. et al. A response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, 76, 2008. 965-977. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>
- BIANCHIN, J. et al. Otimização multivariada e aplicação do sorvente SiO₂-Nb₂O₅ para determinação em linha de Ni(II) em matriz aquosa. **Eclética Química**, 33, 2008. 23-32. <https://doi.org/10.1590/S0100-46702008000400003>
- BORBA, R. P.; FIGUEIREDO, B. R.; CAVAICANTI, J. A. Arsênio na água subterrânea em Ouro Preto e Mariana, Quadrilátero Ferrífero (MG). **Revista Escola de Minas**, 57, 2004. 45-51. <https://doi.org/10.1590/S0370-44672004000100009>
- BORGES, W. M. D. S. et al. Produção, caracterização e avaliação da capacidade adsorptiva de carvões ativados em forma de briquete. **Revista Matéria**, 21, 2016. 930-942. <https://doi.org/10.1590/s1517-707620160004.0086>
- BOSCO, S. M. D.; VIGNADO, C.; A.CARVALHO, W. Adsorção de Mn(II) e Cd(II) por argilas in natura e modificadas com pirrolidina ditiocarbamato de amônio. **Geochimica Brasiliensis**, 20, 2006. 219-232.
- BROOKS, R. R.; PRESLEY, B.; KAPLAN, I. R. APDC MIBK Extration System for the Determination of Trace Elements in Saline Waters by Atomic Absorption Spectrophotometry. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(67\)80102-4](https://doi.org/10.1016/0039-9140(67)80102-4) **Talanta**, 14, 1967. 809-816.
- BRUCE, P. Y. **Química Orgânica**. 4. ed. [S.I.]: Pearson, v. 2, 2006.
- CAMEL, V. Solid phase extraction of trace elements - Review. **Spectrochimica Acta Part B**, 58, 2003. 1177-1233. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(03\)00072-7](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(03)00072-7)
- CARBONELL-BARRACHINA, A. et al. Presence of arsenic in agricultural products from arsenic-endemic areas and strategies to reduce arsenic intake in rural villages. **Molecular Nutrition & Food Research**, 53, 2009. 531-541. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900038>
- CARDOSO, J. M. **Avaliação da fibra de coco (mesocarpo do fruto de Cocos nucifera L.) como adsorvente para remoção do agrotóxico parationa metilica de meio aquoso**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Goiás (Regional Catalão). Catalão, p. 95. 2017.
- CARMO, S. N. D. **Extração Seletiva de Mn(II) utilizando sementes de Morina oleifera como bioadsorvente**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Uberlândia. [S.I.], p. 46. 2014.

- CARVALHO, D. C. et al. Strategies to increase selectivity of analytical. **Sample Prepare**, 2, 2014. 1-12.
- CARVALHO, L. M. D. et al. Especificação analítica de compostos de arsênio empregando métodos voltamétricos e polarográficos: Uma revisão comparativa de suas principais vantagens e aplicações. **Química Nova**, 27, 2004. 261-269. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000200016>
- CERVEIRA, C. et al. Speciation of inorganic arsenic in rice using hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS). **Analytical Methods**, 7, 2015. 4528-4534. <https://doi.org/10.1039/C5AY00563A>
- CHATTERJEE, A. et al. Arsenic in ground water in six districts of West Bengal, India: the biggest arsenic calamity in the world. Part I. Arsenic species in drinking water and urine of the affected people. **Analyst**, 3, 1995. 643-650. <https://doi.org/10.1039/an9952000643>
- CHEN, G.; CHEN, T. SPE speciation of inorganic arsenic in rice followed by hydride-generation atomic fluorescence spectrometric quantification. **Talanta**, 119, 2013.
- COBBETT, C. S.; GOLDSBROUGH, P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. **Annual Review of Plant Biology**, 53, 2002. 189-182. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100301.135154>
- COELHO, L. M. et al. On-line bi-directional electrostacking for As speciation-preconcentration using electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 71, 2007. 353-358. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.04.007>
- COELHO, L. M. et al. Potential Exposure and Risk Associated with Metal. In: **Significance, Prevention and Control of Food Related Diseases**. [S.l.]: Intech Open Science, 2016. Cap. 4, p. 99-123.
- COELHO, N. M. M. **Pré-concentração e determinação de selênio por espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto em um sistema de análise por injeção em fluxo**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, p. 159. 1995.
- COELHO, N. M. M.; SILVA, A. C. D.; SILVA, C. M. D. Determination of As(III) and total inorganic arsenic by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analytical Chimica Acta**, 460, June 2002. 227-223. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00252-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00252-0)
- CONAMA. Ministério do Meio Ambiente, 2009. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res09/res42009.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2017.
- COSTA, B. E. D. S. **Extração seletiva por ponto nuvem para pré-concentração e especificação de arsênio inorgânico em matriz alimentícia empregando Espectrometria de Absorção Atômica Eletrotérmica em Forno de Grafite**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Goiás. Catalão, p. 85. 2013.
- COSTA, B. E. D. S.; COELHO, N. M. M.; COELHO, L. M. Determination of arsenic species in rice samples using CPE and ETAAS. **Food Chemistry**, 178, 2015. 89-95. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.014>
- COSTA, B. E. S. et al. Analytical Strategies for the determination of arsenic in rice. **Journal of Chemistry**, 2016, 2016. 1-11.
- COUNCIL, N. R. **The use of drugs in Food Animals: Benefits and risks**. Washington, DC: National Academic Press, 1999.
- CULLEN, W. R.; REIMER, K. J. Arsenic speciation in the environment. **Chemical Reviews**, 89, 1989. 713-764. <https://doi.org/10.1021/cr00094a002>

DADOS, A. et al. 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**, 130, 2014. 142-147. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.06.046>

DEDINA, J. Interference of volatile hydride forming elements in selenium determination by atomic absorption spectrometry with hydride generation. **Analytical Chemistry**, 54, 1982. 2097-2102. <https://doi.org/10.1021/ac00249a043>

DEDINA, J.; TSALEV, D. L. **Hydride generation atomic absorption spectrometry**. England: John Wiley & Sons, v. 130, 1995.

DEVESA, V.; VÉLEZ, D.; MONTORO, R. Effect of thermal treatments on arsenic species contents in food. **Food and Chemical Toxicology**, 46, 2008. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.08.021>

DORS, G. C.; PINTO, R. H.; BADIALE-FURLONG, E. Influência das condições de parboilização na composição química do arroz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 29, 2009. 219-224. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000100034>

DUAN, G.-L. et al. Evidence for a role a phytochelatins in regulating arsenic accumulation in rice grains. **Environmental and Experimental Botany**, 71, 2011. 416-421. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.02.016>

D'ULIVO, A. Mechanism of generation of volatile species by aqueous boranes towards the clarification of most controversial aspects. **Spectrochimica Acta Part B**, 65, 2010. 360-375. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2010.04.010>

ELTON, R. K.; JR., W. E. G. Analytical and Mechanistic Studies of the Electrochemical Reduction of Biologically Active Organoarsenic Acids. **ANALYTICAL CHEMISTRY**, 50, 1978. 712-717. <https://doi.org/10.1021/ac50027a014>

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Agência de informações EMBRAPA: Arroz**, 2013. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/Abertura.html>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

EZODDIN, M.; MAJIDI, B.; ABDI, K. Evaluation of ultrasound-assisted in situ sorbent formation solid-phase extraction method for determination of arsenic in water, food and biological samples. **Environmental Technology**, 36, 2015. 1381-1388. <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.990933>

FANG, Z. **Flow Injection Separation and Preconcentration**. Nova Iorque: VCH Publishers, 1993. 59 p.

FEATHERSTONE, A. M. et al. Determination of arsenic species in sea-water by hydride generation atomic fluorescence spectroscopy. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 13, 1998. 1355-1360. <https://doi.org/10.1039/a806155f>

FILHO, O. F. **Equilíbrio Iônico Aplicações em Química Analítica**. 1. ed. São Carlos: EdUFSCar, 2016. 513 p.

FRAGA, M. V. B. D. **Desenvolvimento de metodologias analíticas para especiação química de arsênio e determinação de elementos traço em arroz**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 85. 2013.

GIL, R. A. et al. Vapor generation – atomic spectrometric techniques. Expanding frontiers through specific-species preconcentration. A review. **Analytica Chimica Acta**, 875, 2015. 7–21. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.12.040>

- GONÇALVES, J. A. C. **A contaminação natural por arsênio em solos e águas subterrâneas na área urbana de Ouro Preto (MG)**. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, p. 102. 2011.
- GONZALVEZ, A. et al. A review of non-chromatographic methods for speciation analysis. **Analytica Chimica Acta**, 636, 2009. 129-157. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.01.065>
- GOUDARZI, N.; FARSIMADAN, S.; CHAMJANGALI, M. A. Modified dispersive solid-liquid microextraction coupled to HPLC and application of experimental design methodology to determine the trace amount of levothyroxine in human real samples. **Microchemical Journal**, 133, 2017. 417-422. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.04.002>
- GREGG, S. J.; SING, K. S. W. **Adsorption, surface area and porosity**. 2nd. ed. London: Academic Press. Inc., 1982.
- GUNDUZ, S. et al. The use of gold nanoparticles as an effective modifier for the determination of arsenic and antimony by electrothermal. **Microchimica Acta**, 172, 2011. 403-407. <https://doi.org/10.1007/s00604-010-0500-4>
- GÜRKAN, R.; KİR, U.; ALTUNAY, N. Development of a simple, sensitive and inexpensive ion-pairing cloud point extraction approach for the determination of trace inorganic arsenic species in spring water, beverage and rice samples by UV-Vis spectrophotometry. **Food Chemistry**, 180, 2015. 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.142>
- GÜRKAN, R.; KİR, U.; ALTUNAY, N. Development of a simple, sensitive and inexpensive ion-pairing cloud point extraction approach for the determination of trace inorganic arsenic species in spring water, beverage and rice samples by UV-Vis spectrophotometry. **Food Chemistry**, 180, 2015. 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.142>
- HARTSTEIN, S. D.; RUZICKA, J.; CHRISTIAN, G. D. Sensitivity enhancements for flow injection analysis inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using an on line preconcentration ion exchange column. **Analytical Chemistry**, 57, 1985. 21-25. <https://doi.org/10.1021/ac00279a010>
- HENDEN, E. et al. A study of mechanism of nickel interferences in hydride generation atomic absorption spectrometric determination of arsenic and antimony. **Spectrochimica Acta Part B**, 66, 2011. 793-798. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2011.10.001>
- 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**, 123, 2015. 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.04.023>
- HOLAK, W. Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry. **Analytical Chemistry**, 41, 1969. 1712-1713. <https://doi.org/10.1021/ac60281a025>
- INMETRO. **Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos**. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. DOQ-CGCRE-008. [S.l.], p. 20. 2010.
- ITANI, T. et al. Distribution of Amylose, Nitrogen, and Minerals in Rice Kernels with Various Characters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 2002. 5326-5332. <https://doi.org/10.1021/jf020073x>
- IUPAC. IUPAC Recommendations. In: _____ **Pure Appl. Chem.** [S.l.]: [s.n.], v. 72, 2000. p. 1453-1470.
- JAIN, C. K.; ALI, I. Arsenic: Occurrence, toxicity and speciation. **Water Research**, 34, 2000. 4304-4312. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00182-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00182-2)

JAMALI, M. R.; BOROMANDI, A. Preconcentration and Determination of Cadmium in Water and Food Samples by in situ Surfactant-Based Solid-Phase Extraction and Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of Brazilian Chemical Society**, 25, 2014. 1078-1085.

JAMALI, M. R.; SOLEIMANI, B.; RAHNAMA, R. A novel separation/preconcentration procedure using in situ sorbent formation microextraction for the determination of cobalt (II) in water and food samples by flame atomic absorption spectrometry. **Arabian Journal of Chemistry**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.12.007>, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.12.007>

JIANG, H. et al. 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**, 634, 2009. 15-21.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.12.008>

JOHNS, D. O.; DILLIS, R. L.; MORGAN, M. S. Evaluation of dynamic headspace with gas chromatography/mass spectrometry for the determination of 1,1,1-trichloroethane, trichloroethanol, and trichloroacetic acid in biological samples. **Journal of Chromatography B**, 817, 2005. 255-261. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.12.013>

JOVANOVIC, D. et al. Arsenic occurrence in drinking water supply systems in ten municipalities in Vojvodina Region, Serbia. **Environmental Research**, 111, 2011. 315-318.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2010.11.014>

JULIANO, B. O. **Polysaccharides, proteins and lipid of rice**. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists: Rice: Chemistry and Technology, 1985. 17-57 p.

KANG, H. K.; VALENTINE, J. L. Acid interference in the determination of arsenic by Atomic Absorption Spectrometry. **Analytical Chemistry**, 49, 1977. 1829-1832.
<https://doi.org/10.1021/ac50020a047>

KIM, J.-Y. et al. Determination of arsenic species in rice grains using HPLC-ICP-MS. **Food Science and Biotechnology**, 22, 2013. 1509-1513. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0245-z>

KOH, J.; KWON, Y.; PAK, Y.-N. Separation and sensitive determination of arsenic species (As³⁺/As⁵⁺). **Microchemical Journal**, 80, n. 2, 2005. 198-199.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2004.07.011>

KUMAR, K. S.; PANDURANGAPPA, M. Trace Level Arsenic Quantification through Cloud Point Extraction: Application to Biological and Environmental Samples. **The Scientific World Journal**, 2012, 2012. 1-8.

KWON, E. et al. Arsenic on the hands of children after playing in playgrounds. **Environmental Health Perspectives**, 112, 2004. 1375-1380.
<https://doi.org/10.1289/ehp.7197>

LI, R. Y. et al. Mitigation of Arsenic Accumulation in Rice with Water Management and Silicon Fertilization. **Environmental Science and Technology**, 43, 2009. 3778-3783.
<https://doi.org/10.1021/es803643v>

LI, S. et al. Cloud point extraction for trace inorganic arsenic speciation analysis in water samples by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 111, 2015. 74-79. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2015.07.003>

LIMA, G. D. F. **Avaliação de matriz de sílica modificada com óxidos mistos dispersos como sorvente na pré-concentração e especiação de íons metálicos usando sistema FIA-FAAS**. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Uberlândia. [S.l.], p. 175. 2012.

- LOPEZ, A. et al. Generation of AsH₃ from As(V) in the absence of KI as prereducing agent: Speciation of inorganic arsenic. **Talanta**, 39, 1992. 1343-1348. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(92\)80248-C](https://doi.org/10.1016/0039-9140(92)80248-C)
- LÓPEZ-GARCÍA, I.; BRICEÑO, M.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Non-chromatographic screening procedure for arsenic speciation analysis in fish-based baby foods by using electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 669, 2011. 11-17. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.05.005>
- LUCCHESI, A. M.; MARZORATI, L. Catálise de Transferência de Fase. **Química Nova**, 23, 2000. 641-652. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000500014>
- MA, J. et al. Speciation and detection of arsenic in aqueous samples: A review of recent progress in non-atomic spectrometric methods. **Analytica Chimica Acta**, 11, 2014. 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.04.029>
- MAHER, W.; FOSTER, S.; F. KRIKOWA. Measurement of Inorganic Arsenic Species in Rice after Nitric Acid Extraction by HPLC-ICPMS: Verification Using XANES. **Environmental Science and Technology**, 47, 2013. 5821–5827. <https://doi.org/10.1021/es304299v>
- MANDAL, B. K.; SUZUKI, K. T. Arsenic round the world: A review. **Talanta**, 58, 2002. 201-235. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00268-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00268-0)
- MAYER, D. L.; FRITZ, J. S. Semi-micro solid phase extraction of organic compounds from aqueous and biological samples. **Journal of Chromatography A**, 773, 1997. 187-197. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00244-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00244-6)
- MEHARG, A. A.; RAHMAN, M. M. Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption. **Environmental Science & Technology**, 37, 2002. 229-234. <https://doi.org/10.1021/es0259842>
- MEZA, M. M. et al. Arsenic drinking water exposure and urinary excretion among adults in the Yaqui Valley, Sonora, Mexico. **Environmental Research**, 96, 2004. 119-126. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2003.08.010>
- MOHAMMADI, S. Z. et al. Ligand-Less in situ Surfactant-Based Solid Phase Extraction for Preconcentration of Cobalt, Nickel and Zinc from Water Samples Prior to their FAAS Determination. **Journal of Brazilian Chemical Society**, 26, 2015. 51-56.
- MOHAMMADI, S. Z.; AFZALI, D.; HESHMATI, Z. Ligand-less in situ surfactant-based solid phase extraction for preconcentration of silver from natural water samples prior to its determination by atomic absorption spectroscopy. **Toxicological and Environmental Chemistry**, 95, 2013. 1299-1308. <https://doi.org/10.1080/02772248.2014.881829>
- MORETTO, A. L. **Determinação de arsênio por Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidreto em um Sistema de Injeção em Fluxo**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, p. 116. 2001.
- NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry**. 5th. ed. New York: Wiley, 1997. 384 p.
- NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part A: Theory and applications in Inorganic Chemistry**. 6th. ed. New Jersey: Wiley, 2009. 419 p.
- NEARING, M. M.; KOCH, I.; REIMER, K. J. Complementary arsenic speciation methods: A review. **Spectrochimica Acta Part B**, 99, 2014. 150-162. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2014.07.001>

- NEPPOLIAN, B.; DORONILA, A.; ASHOKKUMAR, M. Sonochemical oxidation of arsenic(III) to arsenic(V) using potassium peroxydisulfate as an oxidizing agent. **Water Research**, 44, 2010. 3687-3695. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.04.003>
- NGUYEN, H. T. A. et al. Study of the determination of inorganic arsenic species by CE with capacitively coupled contactless conductivity detection. **Electrophoresis**, 28, 2007. 3500-3506. <https://doi.org/10.1002/elps.200700069>
- NIEDZIELSKI, P.; SIEPAK, M. Analytical methods for determination of arsenic, antimony and selenium in Environmental Samples. **Polish Journal of Environmental Studies**, 12, 2003. 656-667.
- NIELSEN, S.; SLOTH, J. J.; HANSEN, E. H. Determination of ultra-trace amounts of arsenic(III) by flow-injection hydride generation atomic absorption spectrometry with on-line preconcentration by coprecipitation with lanthanum hydroxide or hafnium hydroxide. **Talanta**, 43, 1996. 867-882. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(96\)01832-2](https://doi.org/10.1016/0039-9140(96)01832-2)
- PASIAS, I. N.; THOMADIS, N. S.; PIPERAKI, E. A. Determination of total arsenic, total inorganic arsenic and inorganic arsenic species in rice and rice flour by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, 108, 2013. 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.11.008>
- PIERCE, F. D.; BROWN, H. R. Inorganic interference study of automated arsenic and selenium determination with Atomic Absorption Spectrometry. **Analytical Chemistry**, 48, 1976. 693-695. <https://doi.org/10.1021/ac60368a019>
- QIANG, W.; YU ZHUANNI, A. L. J.; LIU AIFENG, B. T. Y. Bifunctional magnesium oxide crystal successively as adsorbent and matrix modifier for preconcentration and determination of arsenic by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, 133, 2017. 412-416. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.04.004>
- RABER, G. et al. An improved HPLC-ICPMS method for determining inorganic arsenic in food: Application to rice, wheat and tuna fish. **Food Chemistry**, 134, 2012. 524-532. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.113>
- RABIEH, S.; BAGHERI, M.; PLANER-FRIEDRICH, B. Speciation of arsenite and arsenate by electrothermal AAS following ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction. **Microchimica Acta**, 180, 2013. 415-421. <https://doi.org/10.1007/s00604-013-0946-2>
- RAHMAN, M. A. et al. Arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.): Human exposure through food chain. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 69, 2008. 317-324. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.01.005>
- RAHMAN, M. A.; HASEGAWA, H. High level inorganic arsenic in rice areas where arsenic-contaminated water is used for irrigation cooking. **Science of the total Environment**, 69, 2011. 4645-4655. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.07.068>
- RASMUSSEN, R. R.; YITING, Q.; SLOTH, J. J. SPE HG-AAS method for the determination of inorganic arsenic in rice- results from method validation studies and a survey on rice products. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 405, 2013. 7851-7857. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-6936-8>
- REZENDE, H. C. D. **Desenvolvimento de métodos analíticos para especificação de As(III) e As total e determinação de Cd, Cr e Pb em fertilizantes fosfatados utilizando espectrometria de absorção atômica e extração assistida por ultrassom.** Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, p. 117. 2014.
- REZENDE, H. C. et al. Non-chromatographic methods focused on speciation of arsenic and selenium in food and environmental samples. **Sample Preparation**, 2, 2014. 31-48.

- REZENDE, H. C.; COELHO, N. M. M. Determination of Total Arsenic and Arsenic(III) in Phosphate Fertilizers by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry After Ultrasound-Assisted Extraction Based on a Control Acid Media. **Journal of AOAC International**, 97, 2014. 736-741. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.13-261>
- RIVAS, R. E.; LÓPEZ-GARCÍA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters using dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 64, 2009. 329-333. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2009.03.007>
- ROBLES, A. D. et al. The electrochemical reaction mechanism of arsenic on gold analyzed by anodic stripping Square-wave voltammetry. **Electrochimica Acta**, 227, 2017. 447-454. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.12.181>
- ROCHA, D. P. **Extração e pré-concentração em linha de flúor em águas e determinação pelo método de SPADNS**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Uberlândia. [S.l.], p. 71. 2015.
- SANTOS, G. M. D. et al. Inorganic arsenic speciation in rice products using selective hydride generation and atomic absorption spectrometry (AAS). **Microchemical Journal**, 133, 2017. 265-271. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.025>
- SANZ, E. et al. Arsenic speciation in rice, straw, soil, hair and nails samples from the arsenic-affected areas of Middle and Lower Ganga plain. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, 42, 2007. 1695-1705.
- SANZ, E.; MUÑOZ-OLIVAS, R.; CÁMARA, C. A rapid and novel alternative to conventional sample treatment for arsenic speciation in rice using enzymatic ultrasonic probe. **Analytica Chimica Acta**, 535, 2005. 227-235. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.12.021>
- SAWYER, D. T.; SOBKOWJAK, A.; ROBERTS, J. L. **Electrochemistry for Chemists**. 2nd. ed. New York: Wiley, 1995.
- SCHÖDEL, F.; LERNER, H.-W.; BOLTE, M. Tetra-n-butylammonium hexafluorophosphate. **Acta Crystallographica Section E**, E60, 2004. o1680-o1681. <https://doi.org/10.1107/S1600536804021300>
- SHAMSIPUR, M. et al. 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**, 130, 2014. 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.06.049>
- SHIRKHANLOO, H. et al. Arsenic speciation based on amine-functionalized bimodal mesoporous silica nanoparticles by ultrasound assisted-dispersive solid-liquid multiple phase microextraction. **Microchemical Journal**, 130, 2017. 137-146. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.08.013>
- SIHEM, A.; BENCHEIKH LEHOCINE, M.; MINIAI, H. A. Preparation and characterisation of an natural adsorbent used for elimination of pollutants in wastewater. **Energy Procedia**, 18, 2012. 1145-1151. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2012.05.129>
- SILVA, M. A. M. D.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Determination of trace elements in water samples by. **Spectrochimica Acta Part B**, 55, 2000. 803-813.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos S. A., 200.
- SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. [S.l.]: Cengage Learning, 2006. 1124 p.

- SMITH, A. H.; LINGAS, E. O.; RAHMAN, M. Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency. **Bulletin of the World Health Organization**, 78, 2000. 1093-1103.
- SMITH, E. et al. Localization and speciation of arsenic and trace elements in rice tissues. **Chemosphere**, 76, 2009. 529-535. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.010>
- SMITH, E.; JUHASZ, A. L.; NAIDU, W. R. Arsenic uptake and speciation in rice plants grown under greenhouse conditions with arsenic contaminated irrigation water. **Science of the Total Environment**, 392, 2008. 277-283. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.11.023>
- SOIGNET, S. L. et al. United States Multicenter Study of Arsenic Trioxide in Relapsed Acute Promyelocytic Leukemia. **Journal Clinical Oncology**, 19, 2001. 3852-3860. <https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.18.3852>
- STARKS, C. M. **hase Transfer Catalysis -New Chemistry, Catalysts and Applications**. 1st. ed. [S.I.]: Vista Chemical Company, 1987.
- STORCK, C. R. **Variação na composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, p. 111. 2004.
- SUN, G.-X. et al. Survey of arsenic and its speciation in rice products such as breakfast cereals, rice crackers and Japanese rice condiments. **Environment Internationa**, 35, 2009. 473-475. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.07.020>
- TAKASE, I. et al. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova**, 25, 2002. 1132-1144. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000700014>
- TARLEY, C. R. T. **Concentração de Cd(II) e Pb(II) em materiais alternativos empregando sistemas em fluxo e Espectrometria de Absorção Atômica**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, p. 134. 2004.
- TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**, São Paulo, 24, 2001. 808-818. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000600019>
- TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. QUIMIOMETRIA II: PLANILHAS ELETQUIMIOMETRIA II: Planilhas eletrônicas para cálculos de Planejamentos experimentais: Um tutorial. **Química Nova**, 29, 2006. 338-350. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200026>
- THOMMES, M. et al. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, 87, 2015. 1051-1069. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>
- THOMPSON, K. C.; THOMERSON, D. R. Atomic-absorption studies on the determination of antimony, arsenic, bismuth, germanium, lead, selenium, tellurium and tin by utilising the generation of covalent hydrides. **Analyst**, 99, 1974. 595-601. <https://doi.org/10.1039/an9749900595>
- VILARINHO, A. L. **Pré-concentração e determinação de antimônio por espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto utilizando sistema em fluxo**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, p. 142. 2003.
- WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. D. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, 38, 2008. 1187-1192. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000400049>
- WEBB, P. A.; ORR, C. **Analytical methods in fine particle technology**. 1. ed. Norcross: Micromeritics Instrument Corporation, 1997. 53-153 p.

- WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; POHL, P. Comparison of strategies for sample preparation prior to. **Trends in Analytical Chemistry**, 65, 2015. 122-136. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.11.007>
- WELZ, B.; MELCHER, M. Investigations on atomization mechanisms of volatile hydride-forming elements in a heated quartz-cell - Part 1. Gas-phase and surface effects; decomposition and atomization of arsine. **Analyst**, 108, 1983. 213-224. <https://doi.org/10.1039/an9830800213>
- WELZ, B.; SCHUBERT-JACOBS, M. Evaluation of a flow injection system and optimization of parameters for hydride generation atomic absorption spectrometry. **Atomic Spectroscopy**, 12, 1991. 91-104.
- WELZ, V.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3rd. ed. [S.l.]: Weinheim: Wiley VCH, 1999.
- WHO. WHO, Exposure to arsenic: A major public health concern, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs210/en/print.html>>. Acesso em: 21 nov. 2017.
- WU, G. et al. Hierarchically imprinted organic–inorganic hybrid sorbent for. **Analytica Chimica Acta**, 582, 2007. 304-310. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.09.034>
- WU, H. et al. Simultaneous speciation of inorganic arsenic and antimony in water samples by hydride generation-double channel atomic fluorescence spectrometry with on-line solid-phase extraction using single-walled carbon nanotubes micro-column. **Spectrochimica Acta Part B**, 66, 2011. 74-80. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2010.12.002>
- XIE, R. et al. Determination of total toxic arsenic species in human urine using hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 22, 2007. 553-560. <https://doi.org/10.1039/b612979j>
- YASINI, P.; SHEMIRANI, F.; KHANI, R. Food Analytical Methods, 5, 2012. 1303-1310. <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9374-x>
- YOUSEF, S. R.; SHEMIRANI, F. Novel method for in-situ surfactant-based solid phase extraction: application to the determination of Co(II) and Ni(II) in aqueous samples. **Microchimica Acta**, 173, 2011. 415-421. <https://doi.org/10.1007/s00604-011-0579-2>
- ZHAO, D. et al. Arsenic extraction and speciation in plants: Method comparison. **Science of the Total Environment**, 523, 2015. 138-145. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.051>
- ZHOU, Z. et al. Composition and functional properties of rice. **Journal of Food Science and Technology**, 37, 2002. 849-868. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00625.x>
- ZHOU, Z. et al. The distribution of phenolic acids in rice. **Food Chemistry**, 87, 2004. 401-406. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.015>
- ZOUNR, R. A.; TUZEN, M.; KHUHAWAR, M. Y. Ultrasound assisted deep eutectic solvent based on dispersive liquid liquid microextraction of arsenic speciation in water and environmental samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Molecular Liquids**, 242, 2017. 441-446. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.07.053>

APÊNDICE: SÚMULA CURRICULAR

1. Formação Acadêmica

Pós-Graduação

2011 – 2013 Mestre em Química pela Universidade Federal de Goiás – Regional Catalão.

Título: Extração Seletiva por Ponto Nuvem para pré-concentração de arsênio inorgânico em matriz alimentícia empregando espectrometria de absorção eletrotérmica em forno de grafite.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Melo Coelho

Graduação

2007 – 2011 Bacharel em Química pela Universidade Federal de Goiás – Regional Catalão

Título: Desenvolvimento de metodologia analítica para remoção de metais utilizando sementes de moringa como adsorvente natural.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Melo Coelho

2. Experiência Profissional

Docência no Magistério Superior

2017 – Atual: Professor Substituto do Instituto de Química contratado pela Universidade Federal de Uberlândia.

Docência no Ensino Técnico

2013 – 2016: Professor Regente do Programa Nacional de Acesso ao Ensino Técnico (PRONATEC) pelo Instituto Tecnológico de Goiás “Aguinaldo de Campos Netto”.

Programa de Extensão Universitária

2010 – 2011: Equipe de Organização e Docente do Curso Intensivo Pré-vestibular promovido pelo Diretório Acadêmico dos Cursos de Graduação da Universidade Federal de Goiás – Regional Catalão.

3. Artigos Completos Publicados em Periódicos

ALTINO, HEITOR O.N.; COSTA, BRUNO E.S.; CUNHA, RENATA N. DA. Biosorption optimization of Ni(II) ions on Macauba (*Acrocomia aculeata*) oil extraction residue using fixed-bed column. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 5, p. 4895-4905, 2017.

COSTA, BRUNO E. S.; COELHO, LUCIANA M.; ARAÚJO, CLEIDE S. T.; REZENDE, HELEN C.; COELHO, NÍVIA M. M.; Analytical Strategies for the Determination of Arsenic in Rice. *Journal of Chemistry*, v. 2016, p. 1-11, 2016.

COSTA, BRUNO E. S.; COELHO, NÍVIA M. M.; COELHO, LUCIANA M. Determination of arsenic species in rice samples using CPE and ETAAS. *Food Chemistry*, v. 178, p. 89-95, 2015.

4. Capítulo de Livro Publicado

COSTA, BRUNO E.S.; REZENDE, HENRIQUE P.; TAVARES, LILIAM Q.; COELHO, LUCIANA M.; Coelho, Nívia M. M.; SOUSA, PRISCILA A.R.; NÉRI, THAIS S. Application of Flow-Injection Spectrophotometry to Pharmaceutical and Biomedical Analyses. Spectroscopic Analyses - Developments and Applications. 1ª ed.: InTech, 2017, p. 193-212.

5. Principais Trabalhos Apresentados em Congressos

COSTA, B. E. S.; COELHO, L. M.; COELHO, N. M. M. Especificação de arsênio inorgânico em amostras de arroz, empregando extração por ponto nuvem e detecção por ETAAS. In: 39ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2016, Goiânia.

REZENDE, H. P.; COSTA, B. E. S.; COELHO, N. M. M. Estudo das condições de extração seletiva de As(III) por ponto nuvem empregando planejamento fatorial e sistema FIA-HG AAS. In: 18º Encontro Nacional de Química Analítica, 2016, Florianópolis.

COSTA, B. E. S.; BORGES, S. S. O.; BORGES NETO, W.; COELHO, N. M. M.; SILVA, J. B. B. Avaliação da migração de cobre em amostras de ice-drink por análise direta em GF AAS empregando otimização multivariada. In: XXX Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2016, Uberlândia.

REZENDE, H. P.; COSTA, B. E. S.; MESQUITA, G. M.; BORGES, S. S. O.; BORGES NETO, W.; COELHO, L. M.; COELHO, N. M. M. Investigação da disponibilidade e contaminação por arsênio no ambiente aquático de região mineradora. In: XXX Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2016, Uberlândia.

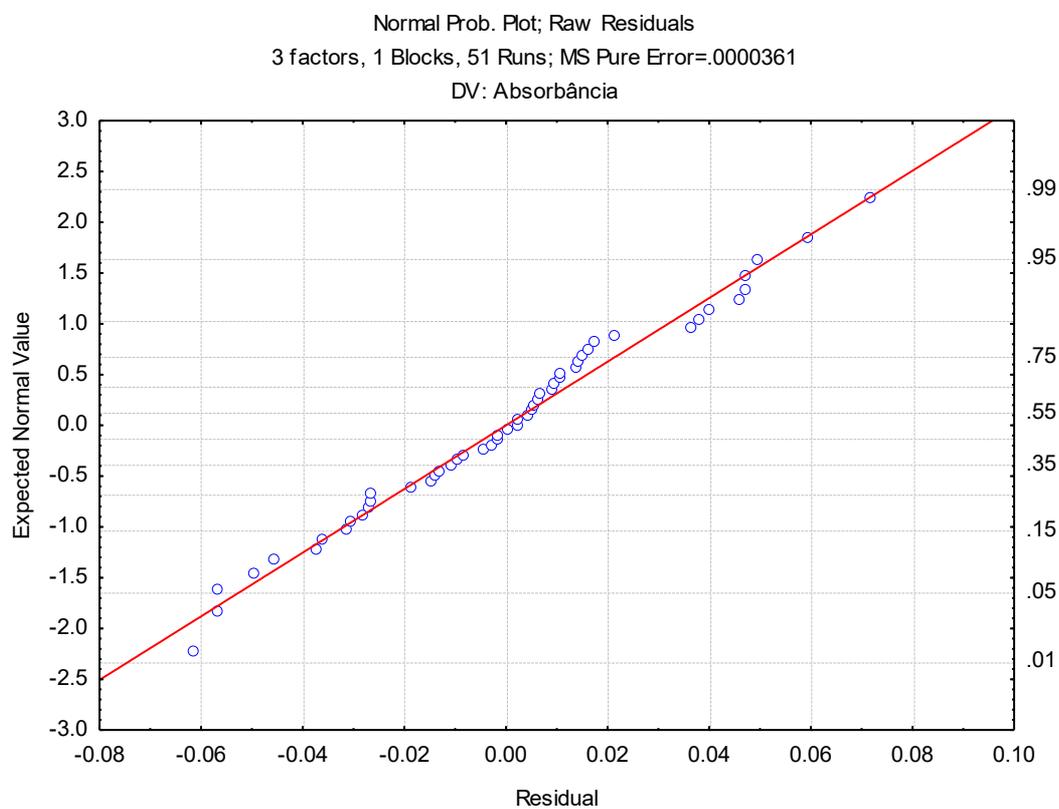
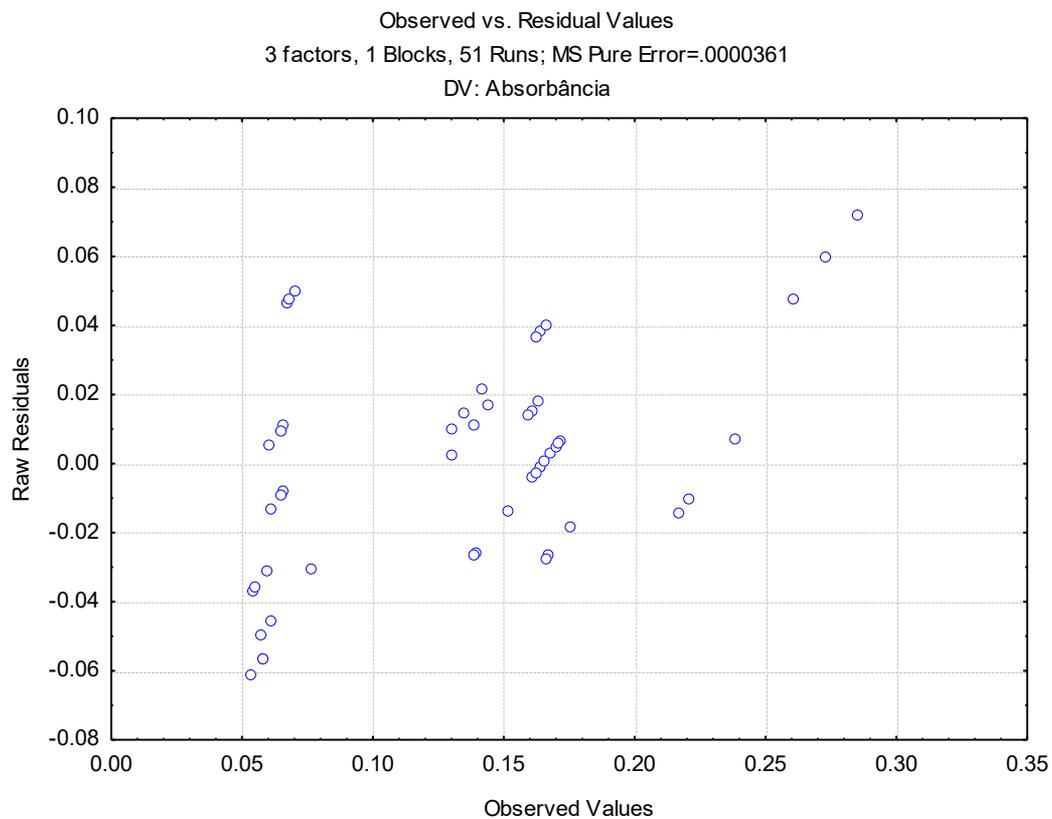
COSTA, B. E. S.; COELHO, N. M. M. Extração em fase sólida nano-estruturada e in-situ para pré-concentração de arsênio e determinação por FI-HG AAS. In: 18º Encontro Nacional de Química Analítica, 2016, Florianópolis.

OLIVEIRA, J. A. N.; FERREIRA, M. M.; SIQUEIRA, L. M. C.; COSTA, B. E. S.; COELHO, N. M. M.; ALVES, V. N. Otimização de um método de extração em fase sólida em fluxo para determinação de Pb²⁺ em ração para frangos. In: XXIX Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2015, Belo Horizonte.

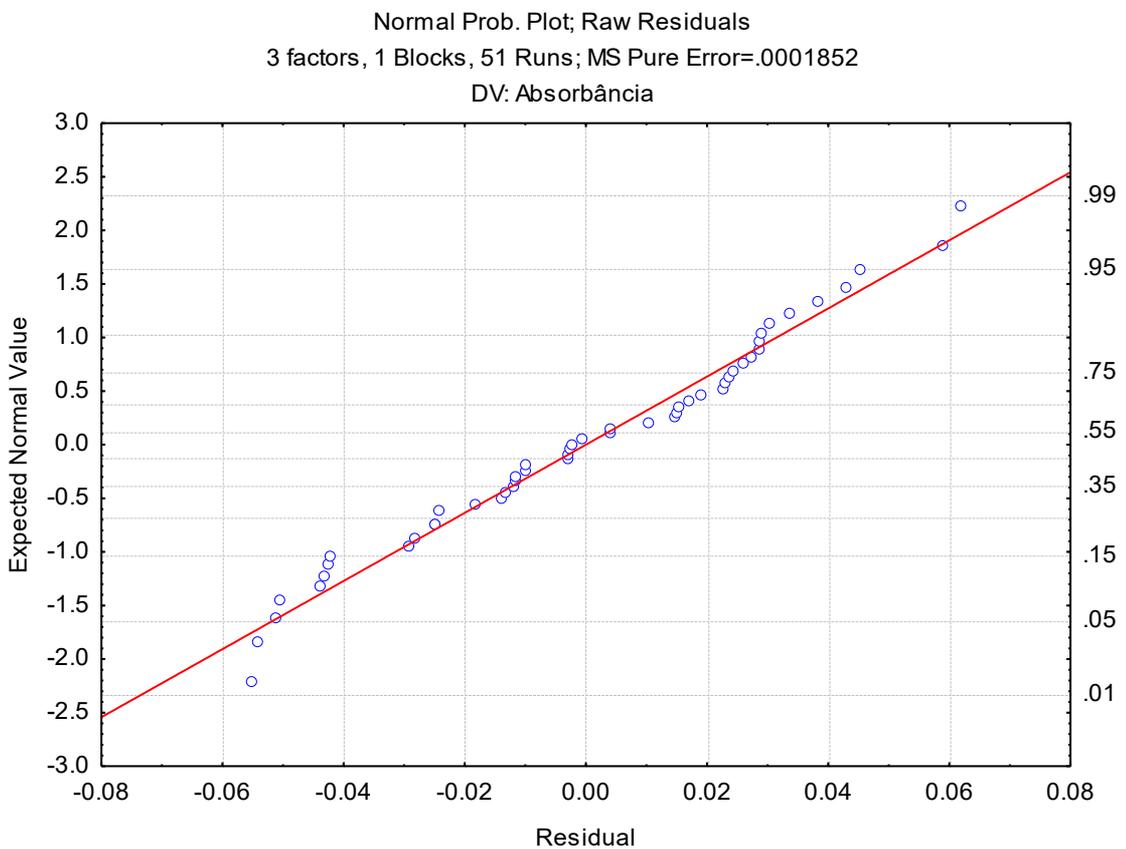
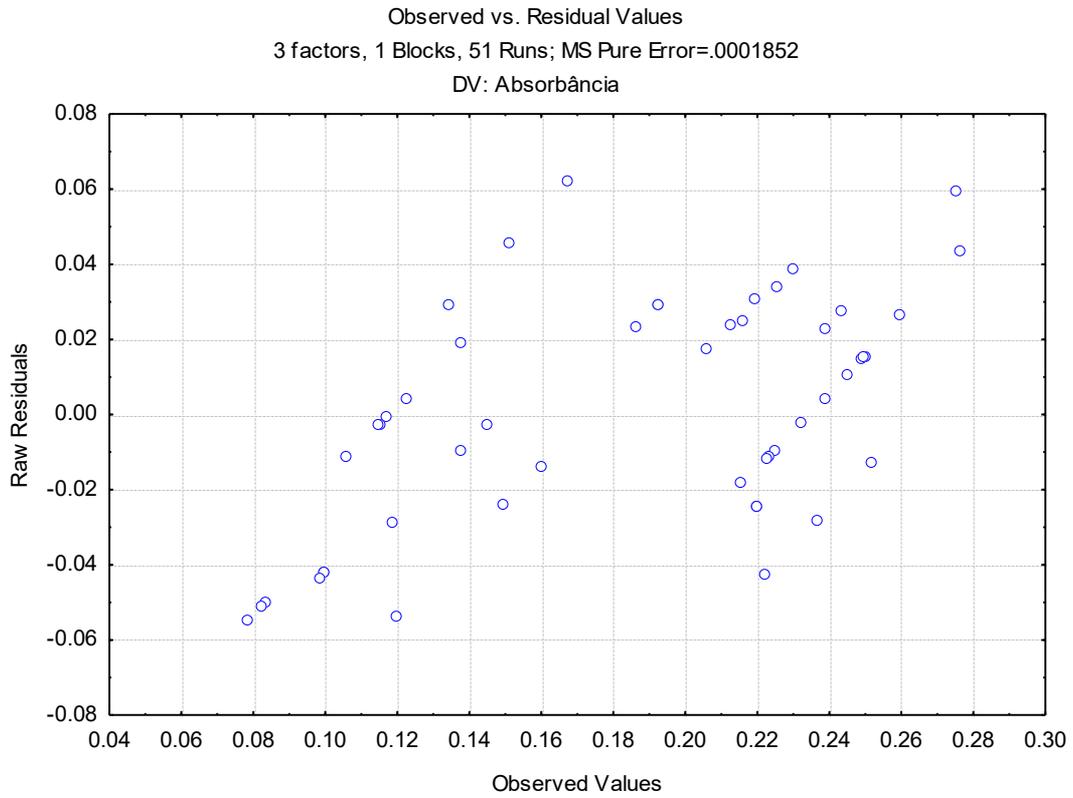
COSTA, B. E. S.; COELHO, L. M.; COELHO, N. M. M. Estudo Comparativo do Programa de Temperatura sobre a Detecção de As por GFAAS em meios aquoso e nao-aquoso. In: V Semana da Química, 2013, Catalão-GO.

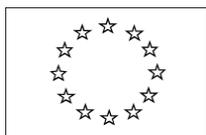
COSTA, B. E. S.; COELHO, L. M.; COELHO, N. M. M. Estudo das Condições Térmicas na Detecção de As por GFAAS em meio micelar mediante Extração por Ponto Nuvem. In: Encontro Nacional de Química Analítica, 2013, Belo Horizonte.

ANEXO A: Diagrama de distribuição dos resíduos e gráfico de probabilidade normal obtidos da modelagem referente ao primeiro Planejamento Composto Central.



ANEXO B: Diagrama de distribuição dos resíduos e gráfico de probabilidade normal obtidos da modelagem referente ao segundo Planejamento Composto Central.



ANEXO C: Certificado do Material de Referência IRR-804 Rice Flour.

EUROPEAN COMMISSION

JOINT RESEARCH CENTRE

Institute for Reference Materials and Measurements



CERTIFIED REFERENCE MATERIAL IRMM – 804

CERTIFICATE OF ANALYSIS

RICE FLOUR		
	Mass Fraction	
	Certified value ¹⁾ [mg/kg]	Uncertainty ²⁾ [mg/kg]
As	0.049	0.004
Cd	1.61	0.07
Cu	2.74	0.24
Mn	34.2	2.3
Pb	0.42	0.07
Zn	23.1	1.9

1) Unweighted mean value of the means of accepted sets of data, each set being obtained in a different laboratory and/or with a different method of determination. The certified values are traceable to the SI.

2) Expanded uncertainty with a coverage factor $k = 2$ according to the Guide for the Expression of Uncertainty in Measurement, corresponding to a level of confidence of about 95 %.

This certificate is valid for one year

after purchase. Sales date:

The minimum amount of sample to be used is 100 mg.

Geel, February 200

Signed: 

Prof. Dr. Hendrik Emons

Unit for Reference Materials EC-JRC-IRMM
Retieseweg 111, 2440 Geel, Belgium



Registration No. 268-TEST
ISO Guide 34 for the
production of reference
materials

All following pages are an integral part of the certificate.

Page 1 of 3

Additional Material Information	
	Mass Fraction
	Value ¹⁾ [mg/kg]
Se	0.038
1) Unweighted mean value of the means of 5 accepted sets of data, each set being obtained in a different laboratory and/or with a different method of determination.	

DESCRIPTION OF THE SAMPLE

The samples consist of 15 g of rice flour in amber glass bottles, closed with polyethylene inserts, screw caps and a crimp seal.

ANALYTICAL METHOD USED FOR CERTIFICATION

- Electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS)
- Flame atomic absorption spectrometry (FAAS)
- Hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HGAFS)
- Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)
- Inductively coupled plasma mass spectrometry using isotope dilution (ID-ICP-MS)
- Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES)
- Instrumental neutron activation analysis (INAA)
- k_0 -neutron activation analysis (k_0 -NAA)
- Radiochemical neutron activation analysis (RNAA)
- Thermal ionisation mass spectrometry using isotope dilution (ID-TIMS)

PARTICIPANTS

- Bureau National de Métrologie et le Laboratoire National d'Essais (BNM – LNE), Paris (FR)
- Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung (BAM), Berlin (DE)
- Centro Nacional de Metrología (CENAM), Querétaro (MX)
- Central Science Laboratory (CSL), Sand Hutton (GB)
- Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Service Central d'Analyse, Vernaison (FR)
- Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), São Paulo (BR)
- CSIR – National Metrology Laboratory, Pretoria (ZA)
- Eidg. Materialprüfungs- und Forschungsanstalt (EMPA), St. Gallen (CH)
- Institute Jožef Stefan, Department of Environmental Sciences, Ljubljana (SI)
- European Commission, DG JRC, Institute for Reference Materials and Measurements (EC-JRC-IRMM), Geel (BE)
- Korea Research Institute of Standards and Science (KRISS) (KR)
- LGC Limited, Teddington (GB)
- National Analytic Reference Laboratory (NARL), Pymble (AU)
- National Metrology Institute of Japan (NMIJ), Tsukuba (JP)
- National Research Center for Certified Reference Materials (NRC CRM), Beijing (CN)
- National Research Council (NRC), INMS, Ottawa (CA)
- National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg (US)
- Nederlands Meetinstituut (NMI) VSL, Delft (NL)
- Nuclear Research and consultancy Group (NRG) Petten, Petten (NL)
- Physikalisch-Technische Bundesanstalt (PTB), Braunschweig (DE)
- Rijksuniversiteit Gent, Gent (BE)
- Studiecentrum voor Kernenergie – Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire (SCK-CEN), Mol (BE)
- Umweltbundesamt Wien, Wien (AT)
- Università di Pavia, Dipartimento di Chimica Generale, Nuclear Chemistry Section, Pavia (IT)
- University of Plymouth, Department of Environmental Sciences, Plymouth (GB)
- Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek (VITO), Mol (BE)
- WRc-NSF Ltd., Medmenham (GB)

SAFETY INFORMATION

The usual laboratory safety precautions apply.

INSTRUCTIONS FOR USE

The main purpose of the material is to assess method performance, i.e. for checking accuracy of analytical results. As any reference material, it can also be used for control charts or validation studies.

The bottles should be shaken by turning upside down for at least two minutes before opening to ensure re-homogenisation of the content. The bottles should only be opened after warm-up to room temperature.

Dry mass determination should be carried out on separate subsamples. Weighing of the samples for dry mass determination and the analysis must be done at the same time to avoid differences in moisture due to the hygroscopicity of the rice flour. Dry mass determination should be carried out by drying in a ventilated oven at 85 °C for at least 12 hours, until constant weight is reached. At this stage two consecutive net sample weights should differ by less than 0.5 %.

STORAGE

IRMM-804 should be stored refrigerated at 4 °C. Open it only after warming-up to room temperature. Care should be taken to avoid moisture pickup once the bottles are open, as the material is hygroscopic.

However, the European Commission cannot be held responsible for changes that happen during storage of the material at the customer's premises, especially of opened bottles.

LEGAL NOTICE

Neither IRMM, its subsidiaries, its contractors nor any person acting on their behalf

(a) make any warranty or representation, express or implied that the use of any information, material, apparatus, method or process disclosed in this document does not infringe any privately owned intellectual property rights; or

(b) assume any liability with respect to, or for damages resulting from, the use of any information, material, apparatus, method or process disclosed in this document save for loss or damage arising solely and directly from the negligence of IRMM or any of its subsidiaries.

NOTE

A technical report on the production of IRMM-804 is available on the internet (<http://www.irmm.jrc.be>). A paper copy can be obtained from IRMM on request.

European Commission – Joint Research
Centre Institute for Reference Materials and
Measurements (IRMM)

Retieseweg 111, B - 2440 Geel
(Belgium) Telephone: +32-(0)14-571.722 -
Telefax: +32-(0)14-590.406