



Universidade Federal de Uberlândia

Instituto de Química

SISBI/UFU



1000198362

551/

541

5586d

TES/mem

**Desenvolvimento de uma metodologia em fluxo para
especiação redox de As em águas utilizando Espectrometria de
Absorção Atômica com Geração de Hidretos**

Adriana Cósmem da Silva

Dissertação de Mestrado

5

Orientadora: Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho

Uberlândia - 2000

*À Deus pelo dom da vida e
pela oportunidade de aprendizagem e a meus pais pelo incentivo e
pela confiança que sempre depositaram em mim!*

“ O que enobrece o trabalho, é a dignidade com que é feito, a humildade com que é praticado e a alegria com que é cumprido.” (Nobre)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
INSTITUTO DE QUÍMICA

ALUNA: ADRIANA COSMEM DA SILVA

NÚMERO DE MATRÍCULA: 5981420-6

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA ANALÍTICA

PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA: NÍVEL MESTRADO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

“Desenvolvimento de uma metodologia em fluxo para especiação redox de As em águas utilizando Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos”.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho

A Dissertação foi **APROVADA** em reunião pública, realizada no Anfiteatro da Biblioteca, do Campus Santa Mônica, em 27 de abril de 2000, às 09:00 horas, com a seguinte Banca Examinadora:

NOME:

Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho (UFU)
Prof. Dr. Sebastião de Paula Eiras (UFU)
Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nobrega (UFSCar)

ASSINATURA

Nívia Maria Melo Coelho
Sebastião de Paula Eiras
Joaquim de A. Nobrega

Uberlândia, 27 de abril de 2000.

AGRADECIMENTOS

Diversas são as pessoas que merecem o meu agradecimento, pois de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

À Prof^a. Dra Nívia Maria Melo Coelho, pela orientação segura, objetiva e também pela sua amizade;

Agradeço ao grupo de trabalho(Espectroscopia Aplicada a Abertura de Amostras), pela amizade, colaboração e estímulo, especialmente ao amigo Cláudio, pela paciência dispensada;

Aos amigos, pela amizade e contribuição durante todo o período de desenvolvimento deste trabalho, em especial ao meu amigo Argos que tanto me incentivou;

À Universidade Federal de Uberlândia, em especial ao Instituto de Química, juntamente com os professores e funcionários da Pós-graduação em Química, responsáveis pelo desenvolvimento de minha carreira profissional;

Ao convênio FAPEMIG/FIEMG pela bolsa de estudos concedida, e ao Cetel/Fam/SENAI pela colaboração dispensada;

Enfim, agradeço a todas as pessoas que, direta e indiretamente, colaboraram com minha formação profissional.

Índice	Página
1 - Introdução	01
2 - Objetivos	04
3 - Revisão Bibliográfica	05
3.1 - O Arsênio	05
3.2 - Análise por Injeção em Fluxo	09
3.3 - Metodologias Analíticas para Determinação de Arsênio.....	12
3.4 - Métodos Analíticos Utilizados para Especificação de Arsênio.....	17
3.5 - Método de geração de hidretos	21
3.5.1 - Princípio do método.....	21
3.5.2 - Atomização e mecanismos de atomização de hidretos.....	25
3.5.3 - Interferentes e mascarantes na técnica de geração de hidretos.....	27
4 - Parte Experimental.....	31
4.1 - Metodologia Analítica.....	31
4.1.1 - Sistema por Injeção em Fluxo.....	31
4.1.2 - Preparação e Calibração do Atomizador.....	33
4.1.3 - Reagentes e soluções de referência.....	33
4.1.4 - Estudo das Variáveis no Sistema Análise por Injeção em Fluxo e Geração de Hidreto.....	34
4.1.5 - Redução de As (V) a As (III).....	35
4.1.6 - Estudo de interferentes.....	36
4.1.6.1 - Interferência Líquida.....	36
4.1.6.2 - Interferência Gasosa.....	37
4.1.7 - Amostras.....	37

5 - Resultados e Discussões.....	38
5.1 - Testes Preliminares.....	38
5.2 - Otimização dos parâmetros no sistema F.I.A. e Geração de Hidreto.....	40
5.2.1- Efeito do volume injetado.....	40
5.2.2 - Efeito da bobina de reação.....	42
5.2.3 - Efeito da temperatura de atomização.....	43
5.2.4 - Efeito da vazão dos carregadores.....	45
5.2.5 - Efeito da concentração de NaBH_4	46
5.2.6 - Efeito da concentração de HCl	47
5.2.7 - Efeito do gás de arraste.....	48
5.3 - Estudo da Redução de As (V) à As (III) utilizando como Agente Redutor a L-cisteína.....	50
5.3.1 - Variação da concentração de L-cisteína.....	50
5.3.2 - Redução de As (V) a As (III).....	52
5.4 - Estudo de Interferentes e Mascaramentos.....	53
5.4.1 - Interferência em fase Líquida.....	54
5.4.2 - Interferência em fase gasosa.....	56
5.5 - Curvas de Calibração, precisão, exatidão e limite de detecção.....	60
5.5.1 - Curvas de Calibração, precisão e limite de detecção.....	60
5.5.2 - Exatidão do Método.....	62
5.5.2.1 - Determinação de Arsênio (III e V) em Água de Bebida.....	62
5.5.2.2 - Determinação de Arsênio (III e V) em Amostras de Águas Reais.....	63
6 - Conclusões.....	64
7 - Referências Bibliográficas.....	66

Índice de Tabelas e Figuras

Tabela 1: Compostos de arsênio de interesse em estudos de especiação.....	06
Tabela 2: Fator de interferência dos íons da fase líquida na determinação de arsênio (III) ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$).....	55
Tabela 3: Fator de interferência dos íons da fase líquida utilizando coluna de resina de troca catiônica .Solução de arsênio(III) $0,1 \text{ mg L}^{-1}$	56
Tabela 4: Fator de interferência dos íons em fase gasosa na determinação de arsênio (III) ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$).....	58
Tabela 5: Fator de interferência dos íons em fase gasosa utilizando Tiouréia (0,5 % m/v) como mascarante. Solução padrão de arsênio (III) $0,1 \text{ mg L}^{-1}$	58
Tabela 6: Fator de interferência dos íons da fase gasosa utilizando Tiouréia (1,0 % m/v) como mascarante. Solução padrão de arsênio(III) $0,1 \text{ mg L}^{-1}$	59
Tabela 7: Valores certificados dos elementos constituintes em amostras de águas de bebida (APS 1075).....	62
Tabela 8: Determinação de Arsênio (III e V) mg L^{-1} em amostra certificada de água de bebida.....	63
Tabela 9: Determinação de Arsênio (III e V) em Amostras de Águas.....	64
Figura 1: Sistema F.I.A. em linha única.....	10
Figura 2 : Sistema F.I.A. de zonas coalescentes em confluência utilizado para a determinação de arsênio (III e V).....	31

Figura 3: Separador Gás-Líquido.....	32
Figura 4: Atomizador.....	32
Figura 5: Sistema F.I.A. de zonas coalescentes em confluência utilizado para reduzir o efeito de interferentes em fase líquida na determinação de As (III e V)..	36
Figura 6: Perfil de temperatura obtido com o atomizador de quartzo. V é voltagem (Volts).....	39
Figura 7: Efeito do volume injetado na determinação de As (III) e As (V).....	41
Figura 8: Efeito do comprimento da bobina de reação na determinação de As(III) e As(V).....	43
Figura 9: Efeito da temperatura de atomização na determinação de As (III).....	44
Figura 10: Efeito da vazão dos carregadores na determinação de As (III e V).....	45
Figura 11 : Efeito da concentração de NaBH_4 na determinação de As (III) e As (V)..	46
Figura 12: Efeito da concentração de HCl na determinação de As (III e V).....	48
Figura 13: Efeito da vazão de nitrogênio na determinação de As (III e V).....	49
Figura 14: Efeito da variação da concentração de L-cisteína na redução do As (V)....	51
Figura 15: Sinal analítico (absorbância) obtido para As (III) e As (V) na presença e na ausência de L-cisteína 0,01% m/v.....	52

Figura 16: Curva de Calibração para determinação de As (III).....	61
Figura 17: Curva de Calibração para determinação de As(V).....	61

ABSTRACT

A method was developed for determination of arsenic by Atomic Absorption Spectrometry - Hydride Generation in Flow Injection Analysis (FIA).

The flow injection system was operated in the merging zones configuration, where sample and reagent are simultaneously injected into two carrier streams, HCl and H₂O, respectively. For separation of arsine a continuous gas-liquid separator was designed. The liquid phase flows to a free-running drain while the gaseous phase is purged by nitrogen into the atomization cell.

The optimum conditions for the generation of arsine were established as: reaction coil of 50 cm, sample and reagent injected volume of 250 μ L, 1.0% (m/v) solution of sodium tetrahydroborate and 1.0 mol L⁻¹ hydrochloric acid, cell temperature of 900°C, flow rates of 3.6 mL min⁻¹ for hydrochloric acid and tetrahydroborate solutions and a flow rate of 130 mL min⁻¹ for the carrier gas (N₂).

Many elements cause interferences in this technique in gaseous and condensed phases. It was found that Mn(II), Pb(II), Fe(III), Cu(II), Ni (II), Zn (II), Al (III) and Cd (II) caused signal reductions for arsenic of at least 10%. The interferences were reduced by using an on-line mini-column with 50 mg of the cation exchange resin Amberlite IRA-120. The interferences in the gaseous phase were caused by Se(IV), Sn(II), Sb(III), Bi(III) and Te (IV). To overcome these effects, thiourea was used as masking agent.

Under the optimum experimental conditions, the detection limit, defined as three times the standard deviation of the blank measurement, was found to be 0,35 ng mL⁻¹ for As(III) and 0,52 ng mL⁻¹ for As(V). The relative standard deviation of 2,3% for 0,1 mg L⁻¹ As(III) and 1,7% for 0,1 mg L⁻¹ As(V) and a sampling rate of about 120 determinations per hour.

The method was shown to be satisfactory for determination of traces arsenic in water samples (natural and certificate).

Key-words: *arsenic, speciation, hydride generation, redox, waters*

RESUMO

Um método em fluxo foi desenvolvido para determinação de arsênio utilizando a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica e Geração de Hidretos.

Foi utilizado o sistema de zonas coalescentes. A amostra e o agente redutor (NaBH_4) foram introduzidos em linhas de carregadores de ácido clorídrico e água desionizada, respectivamente. A arsina gerada foi separada da fase líquida no separador gás-líquido, usando N_2 com gás de arraste, sendo transportado ao atomizador eletrotérmico.

As condições experimentais otimizadas do sistema de fluxo e geração da arsina foram: bobina de reação de 50 cm, volume injetado de amostra e reagente de 250 μL concentração de NaBH_4 de 1,0% (m/v), concentração de HCl de 1,0 mol L^{-1} , temperatura de atomização de 900 $^{\circ}\text{C}$, vazão de fluxo dos carregadores de 3,6 mL min^{-1} e vazão do gás de arraste 130 mL min^{-1} .

Alguns elementos interferem na fase líquida e na fase gasosa na técnica de geração de hidretos. Os estudos mostram que Mn(II) , Pb(II) , Fe(III) , Cu(II) , Ni (II) , Zn (II) , Al (III) and Cd (II) causam uma redução no sinal analítico maior 10% (m/v). O efeito dos interferentes foi minimizado com o uso de uma mini-coluna contendo resina de troca catiônica (50 mg de Amberlite IRA-200), em linha. O estudo dos íons da fase gasosa mostraram que Se(IV) , Sn(II) , Sb(III) , Bi(III) e Te(IV) causam interferência no sinal analítico. Este efeito foi contornado com o uso de tiouréia como agente mascarante.

Sob condições experimentais otimizadas; o limite de detecção, de acordo com a definição da IUPAC, foi de 0,35 ng mL^{-1} para As(III) e 0,52 ng mL^{-1} para As(V) . O desvio padrão relativo foi de 2,3% para 0,1 mg L^{-1} As(III) e 1,7% para 0,1 mg L^{-1} As(V) e a frequência analítica de 120 amostras por hora.

O método desenvolvido foi aplicado para a determinação de arsênio em amostras de águas (naturais e certificadas).

Palavras-chave: *arsênio, especiação, geração de hidretos, redox, águas*

1 - INTRODUÇÃO

No grande avanço da ciência, claramente perceptível no cotidiano, ressalta-se a participação efetiva da Química, devido a sua abrangência multidisciplinar. Assim, os seus conhecimentos teóricos ou fundamentos experimentais, propiciam condições para solucionar grande número de problemas em diferentes níveis e escalas de importância econômica.

A análise aplicada ao ambiente, tem se afastado do “analisar por analisar” e se aproximado do desenvolvimento de metodologias aplicadas a problemas ambientais definidos. O monitoramento de espécies químicas consideradas poluentes é importante para o conhecimento dos mecanismos e processos que têm lugar no ecossistema, envolvendo o meio ambiente interno e externo. Dentro deste contexto, é inquestionável o papel que a química analítica possa atuar na área de monitoramento de contaminantes fornecendo métodos analíticos que sejam eficientes, rápidos, exatos e precisos.

Neste âmbito, a modernidade nos instrumentos de análise tem acompanhado todas as áreas da química analítica, especialmente na área de química ambiental, onde o desenvolvimento de sistemas automáticos tendem a suprir a grande demanda de análises.

Historicamente, a modernização dos instrumentos de análise esteve intimamente associada com o desenvolvimento da química analítica. Métodos sensíveis são essenciais para determinar as concentrações mínimas dos metais pesados. A multielementariedade da análise é desejável para permitir rapidamente analogias e avaliações ambientais mais abrangentes. Durante os últimos quinze anos, tal demanda foi responsável por um grande desenvolvimento da química analítica. E o retorno à comunidade científica foi o de propiciar informações mais profundas e, ao mesmo tempo, mais abrangentes sobre o comportamento dos metais no meio ambiente e, em particular, no homem.

No entanto, o grande desafio da análise química ainda persiste para a maioria dos químicos analíticos onde estes se deparam frequentemente com a determinação de elementos presentes em pequenas quantidades em matrizes cada vez mais complexas. Os métodos instrumentais analíticos nem sempre apresentam sensibilidade e seletividade para detectar diretamente íons a níveis baixos de concentração, havendo necessidade de combinar procedimentos analíticos com uma instrumentação eficiente, mediante o uso de métodos adequados caracterizados por boa precisão, exatidão e simplicidade operacional.

As primeiras tentativas para automatizar as etapas de uma análise química foram feitas através de mecanização e da simulação das operações dos métodos manuais. Os analisadores utilizados para estas propostas eram de alto custo e não suficientemente eficientes para grandes aceitação em laboratórios de rotina.

Uma importante inovação para automatização no laboratório foi a introdução dos analisadores de fluxo contínuo proposto por Skeggs ⁽¹⁾ em 1957. Dentre os analisadores de fluxo contínuo, os “AutoAnalyzers”, introduzidos pela Technicon Instrument Co., foram os analisadores mais aceitos para automatização de análises antes do surgimento da técnica de Análise por Injeção em Fluxo (F.I.A., do inglês, Flow Injection Analysis).

A técnica F.I.A., introduzida em 1975, por Ruzicka e Hansen ⁽²⁾, teve grande repercussão na comunidade científica, principalmente na década de 80. Uma parte deste avanço se deve aos trabalhos desenvolvidos por pesquisadores do Centro de Energia Nuclear para Agricultura – CENA/ USP / Piracicaba – Brasil. Originalmente considerada como uma técnica para automatização dos ensaios seriais, atualmente, a técnica de inserção em fluxo pode ser considerada como uma importante técnica para substituir os procedimentos manuais de separação pela forte ligação entre a química e a instrumentação analítica. Empregando esses sistemas é possível a implementação de praticamente todas as etapas envolvidas no processo de análise química (amostragem, separações, diluições, pré-concentrações, adição de reagentes e outros) . Entretanto, embora pouco explorados nesse sentido, os sistemas também apresentam grande potencialidade para a determinação de parâmetros físico-químicos, tais como coeficientes de difusão, viscosidade, capacidade complexante de ligantes, parâmetros cinéticos e estequiometria de reação ⁽³⁾.

Em se tratando da determinação de elementos traço(1 mg L^{-1}), a Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos é uma técnica útil, sendo aplicada na determinação dos elementos As, Bi, Ge, Pb, Sn, Sb, Se, Te e Ge, em algumas matrizes. Sua popularidade se deve as seguintes vantagens: separação da espécie analítica da matriz, alta eficiência na introdução da amostra resultando em boa sensibilidade e fácil automatização. Estas vantagens quando associadas àquelas apresentadas pela técnica em fluxo em linha são de interesse para o desenvolvimento de novos métodos analíticos.

Dentre os elementos que são determinados pela técnica de Espectrometria de Absorção Atômica por Geração de Hidretos, o arsênio é um elemento que, nos últimos anos, apresentou grande interesse para o desenvolvimento de novos métodos para a sua determinação. O arsênio é um elemento cujas propriedades são essenciais e tóxicas ao homem, portanto de amplo interesse ambiental e clínico. O pequeno intervalo de concentração entre o nível essencial e o toxicológico impõe a necessidade do desenvolvimento de métodos para a determinação exata de baixos níveis deste elemento ⁽³⁾.

A Especação de elementos traço é um campo relativamente novo dentro da química analítica ⁽⁴⁾. Esta consiste na determinação da concentração das diferentes formas químicas de um elemento numa matriz, sendo que estas espécies, juntas, constituem a concentração total do elemento na amostra. Antigamente, a determinação da concentração total de um dado elemento parecia ser suficiente para todas as considerações clínicas e ambientais ⁽⁵⁾. Hoje, já não é mais assim. Embora o conhecimento da concentração total de um elemento ainda seja muito útil, é essencial, em vários esquemas analíticos, a determinação das espécies químicas nas quais o elemento está distribuído ⁽⁶⁾.

Sabe-se hoje que a determinação da concentração total de um elemento é uma informação limitada, especialmente sobre o seu comportamento no meio ambiente e nos danos que pode causar à saúde. As propriedades físicas, químicas e biológicas são dependentes da forma química em que o elemento está presente ⁽⁷⁾. Para estimar o risco envolvido, precisam ser considerados a variação na toxicidade, o transporte e a biodisponibilidade, que são dependentes das formas químicas na qual o arsênio está presente. Por isto é necessário utilizar métodos analíticos que ajudem a diferenciar essas formas ⁽⁸⁾.

A coleta, o tratamento e a preservação das amostras para determinação qualitativa e quantitativa, visando à especiação de um elemento, requerem planejamento e uma consideração cuidadosa. A natureza desta tarefa é muito diferente daqueles procedimentos para determinação total do elemento. Neste caso, o procedimento a ser adotado, é o de manter o equilíbrio estabelecido entre as formas químicas do elemento nas amostras, desde a coleta até a análise. Entretanto, é essencial ter-se em mente que dados sobre a concentração total são necessários para muitas investigações. As amostras devem ser analisadas o mais rapidamente possível, logo após a coleta, sem uso de soluções preservativas, como, por exemplo, a acidificação do meio, que modifica o equilíbrio das espécies presentes ⁽⁹⁾.

A determinação seletiva de arsênio, tem despertado o maior interesse em muitos laboratórios analíticos, e vários métodos vêm sendo desenvolvidos para a determinação de arsênio inorgânico, orgânico e total em diferentes tipos de matrizes como águas, alimentos de origem marinha, sedimentos e materiais biológicos, entre outros.

2 - OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia rápida e eficiente para a determinação e especiação do arsênio inorgânico (III e V) em amostras de águas utilizando o sistema de injeção em fluxo acoplado a Espectrometria de Absorção Atômica com geração de hidretos.

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 – O Arsênio

A descoberta do arsênio não está bem estabelecida na literatura. Acredita-se que Albertus Magnus obteve o elemento em 1250 D.C.⁽¹⁰⁾.

O arsênio existe na natureza numa variedade de formas químicas, incluindo espécies orgânicas e inorgânicas, como resultado de sua participação em complexos biológicos, processos químicos e algumas aplicações industriais, como a manufatura de certos vidros, materiais semicondutores e fotocondutores, entre outros⁽¹¹⁻¹³⁾.

Compostos contendo arsênio são utilizados no tratamento de determinadas doenças e, na agricultura, o arsênio encontra-se presente na formulação de herbicidas, inseticidas e desfolhantes⁽⁷⁾. O arsênio é adicionado em ligas metálicas, para reduzir a ductibilidade do aço e para aumentar o seu brilho.

A distribuição de arsênio no meio ambiente resulta de um processo natural, por exemplo: sedimentos marinhos, pedras, erosão, degradação química pela ação do tempo (de solos e de minerais), e da atividade humana, como: operações de mineração, extração de metais e pesticidas⁽¹⁴⁾.

Em amostras reais o arsênio está presente em diferentes formas químicas, como: As (III) e As (V) ou em outras formas, as quais exibem diferentes mobilidades, disponibilidade e toxicidade no meio ambiente ou em sistemas biológicos.

Os altos níveis de toxicidade de arsênio são muito bem conhecidos, pois compostos de arsênio são facilmente absorvidos, tanto oralmente quanto por inalação, sendo a extensão da absorção dependente da solubilidade do composto. O nível tolerável de arsênio no corpo humano é de: soro sanguíneo 0,04 – 0,2 mg L⁻¹, urina ≤ 0,1 mg L⁻¹ e nos tecidos de 0,2 – 0,3 mg L⁻¹, e em águas é de 0,05 mg L⁻¹⁽¹⁵⁾. Na Tabela 1 são apresentadas algumas espécies de arsênio de interesse em estudos de especiação⁽¹⁶⁾.

Tabela 1 – Compostos de arsênio de interesse em estudos de especiação

Composto	Fórmula
Arsina	AsH_3
Ácido arsenioso - As(III) (HAsO_2)	$\text{O} = \text{As} - \text{OH}$
Ácido arsênico - As (V) (H_3AsO_4)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{O} = \text{As} - \text{OH} \\ \\ \text{OH} \end{array}$
Ácido monometilarsônico - MMAA (V)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{O} = \text{As} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Ácido dimetilarsínico - DMAA (V)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{O} = \text{As} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Arsenobetaina – AsB	$\begin{array}{ccc} & \text{CH}_3 & \text{O} \\ & & \\ \text{H}_3\text{C} - \text{As}^+ & - \text{CH}_2 - & \text{C} \\ & & \\ & \text{CH}_3 & \text{OH} \end{array}$
Arsenocolina - AsC	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{C} - \text{As}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

O arsênio é amplamente distribuído na biosfera. Água do mar não poluída contém $2 - 3 \mu\text{g L}^{-1}$, a crosta terrestre possui uma concentração média de $2 \mu\text{g kg}^{-1}$, e a concentração em organismos marinhos varia de $1,0$ a $30 \mu\text{g kg}^{-1}$ de arsênio ⁽¹⁶⁾, as quais são caracterizadas

pela quantidade relativamente alta deste elemento. Na quantificação de arsênio em alimentos de origem marinha, geralmente se determina a concentração total de arsênio e, raramente, As (III) e As (V) separados da forma orgânica. Esta avaliação, sem especificação, envolve valores superestimados, uma vez que os compostos orgânicos de arsênio, presentes nos organismos marinhos, e de muito menor toxicidade, são também determinados ⁽¹⁷⁾.

Uma longa exposição a compostos inorgânicos de arsênio, pela ingestão de água pode gerar várias doenças tais como: conjuntivite, hiperqueratose, hiperpigmentação, doenças cardiovasculares, distúrbios no sistema nervoso central e vascular periférico, câncer de pele e gangrena nos membros. O efeito tóxico das espécies de arsênio depende, principalmente, de sua forma química ⁽⁶⁾.

Arsênio em águas naturais pode ocorrer como As (III) (arsenito), As (V) (arseniato), íon monometilarsônico (MMA) e íon dimetilarsínico (DMA). Porém, a mais importante forma química de arsênio em águas naturais são as espécies inorgânicas As (III) e As (V). Estas são mais prováveis de serem encontradas, devido a liberação destes compostos de minerais ⁽¹⁸⁾. Águas subterrâneas contêm arsênio como As (III) e As (V). Em águas de mar, lagoas, lagos, e onde houver possibilidade de biometilação, arsenito e arseniato ocorrem junto com MMA e DMA ⁽¹⁹⁾.

A ordem decrescente de toxicidade dos compostos de arsênio, segundo Anderson et al. ⁽²⁰⁾ e Burguera et al. ⁽²¹⁾ é a seguinte: arsina > arsenito(As(III)) > arseniato(As(V)) > ácidos alquil-arsênicos > sais de arsênio > arsênio elementar. O As (III) é 60 vezes mais tóxico do que a forma oxidada As (V). Os compostos inorgânicos são 100 vezes mais tóxicos do que as formas parcialmente metiladas (MMA e DMA) ⁽²²⁾. Porém, para estimar os riscos fisiológicos e ambientais, é insuficiente determinar somente arsênio total em meio ambiente ou em amostras biológicas ⁽²³⁾.

Arsênio (III) e As (V) são as espécies mais tóxicas, enquanto arsenobetaina e arsenocolina são relativamente não tóxicas. A LD₅₀ (a dose letal para 50% de uma população) para As₂O₃ em ratos é de 20 mg kg⁻¹; para KAsO₂ é de 14 mg kg⁻¹; para Ca₃(AsO₄)₂ é de 20 mg kg⁻¹; para MMAA (ácido monometilarsônico) é de 700-800 mg kg⁻¹ para DMAA (ácido dimetilarsínico) é de 700-2600 mg kg⁻¹; enquanto que para arsenobetaina e para arsenocolina não foi observado sinal de toxicidade em camundongos após dose oral de 10 g kg⁻¹ e de 6,5 g kg⁻¹, respectivamente ⁽²⁴⁾.

A metilação de arsênio inorgânico no corpo humano é um processo de desintoxicação que ocorre nos rins, e reduz a afinidade do composto para com o tecido. As etapas de metilação são: $\text{As (V)} \rightarrow \text{As (III)} \rightarrow \text{MMA (V)} \rightarrow \text{MMA (III)} \rightarrow \text{DMA (V)}$ ^(22,25), logo, quando arsênio inorgânico é ingerido, é através da urina (a principal via de eliminação) que os metabólitos do arsênio inorgânico, isto é, DMA e MMA são eliminados ^(22, 25, 26).

Alguns compostos arseno-orgânicos, presentes em sistemas biológicos são menos tóxicos. Por exemplo, arsenobetaina (AsB), cuja presença em alimentos de origem marinha constitui a maior fonte de arsênio na dieta, é essencialmente não tóxica ^(15, 22) e excretada na urina, sem modificação, com tempo de residência muito curto (de 6 a 24 horas, no máximo) ⁽¹⁷⁾.

A flora e fauna marinhas, contém um número de compostos de arsênio onde este elemento parece ser trocado por nitrogênio ou fósforo nas vias metabólicas. Tais compostos incluem a arsenobetaina, arsenocolina e arseno-açúcares ⁽¹¹⁾.

Organismos marinhos acumulam quantidades substanciais de arsênio de modo mais eficiente que os organismos terrestres. Informações sobre espécies de arsênio são tão importantes para avaliar as implicações toxicológicas quanto para elucidar o ciclo biogeoquímico deste elemento no ambiente marinho. Algas marinhas absorvem arseniats (forma predominante de arsênio na água do mar), e o transformam em diferentes ribosídeos contendo arsênio. O arseniato é absorvido devido a sua similaridade com o fosfato que é essencial. A literatura mostra que os organismos marinhos, adquirem arsênio através da cadeia alimentar, e transformam o arsênio inorgânico em arsenobetaina via MMA e DMA através da biometilação ⁽¹⁶⁾.

A arsenobetaina é um composto orgânico formado pela desintoxicação do arseniato fitotóxico através de biometilação. Os resultados da literatura sugerem que, acima de tudo, produtores primários tais como: microorganismos, fitoplâncton e zooplâncton, como também algas e outros organismos de mais baixo estágio de evolução trófica, desintoxicam arseniato pelo desenvolvimento de substâncias metiladas, arseno-açúcares solúveis em água e arseno-fosfolípidios solúveis em gordura ⁽¹⁷⁾.

Quando o ser humano sofre uma exposição a arsênio, aguda ou crônica, sua concentração é freqüentemente monitorada pela determinação de arsênio total na urina. Por

exemplo, arsênio inorgânico ingerido (por inalação, comida ou bebida) como As (V) é reduzido a As (III), o qual está sujeito às etapas do processo de metilação - inicialmente a MMA, e em seguida a DMA. Se o arsênio é ingerido nas formas menos tóxicas, MMA ou DMA, ou, formas não tóxicas derivadas da arsenobetaina e arsenocolina, nenhum processo de metilação ou desmetilação parece ocorrer, e essas formas são excretadas na urina sem mudança na estrutura ⁽²⁷⁾.

A química ambiental do arsênio é complexa, em virtude das diferenças entre as propriedades dos seus compostos de origem natural ou antrópica. O aspecto bioquímico mais observado no meio ambiente é a metilação. Mesmo que compostos metilados de arsênio não sejam usados na agricultura, o arsênio inorgânico pode ser convertido em formas metiladas no meio ambiente, que são liberadas no meio aquoso, tornando-se disponível para aumentar os níveis de arsênio na cadeia alimentar. Como a biodisponibilidade e os efeitos fisiológicos e toxicológicos do arsênio dependem de sua forma química, o conhecimento da especiação e transformação no meio ambiente torna-se importante, necessitando de métodos adequados para a separação e determinação das espécies de arsênio ⁽²⁸⁾.

3.2 – Análise por Injeção em Fluxo

A Análise por Injeção em Fluxo de onde foi derivada a sigla F.I.A., internacionalmente conhecida. Este processo de análise química foi proposto em 1975 por Jaromir Ruzicka & H. Hansen ⁽²⁾.

O processo de análise química por injeção em fluxo tem como conceito básico a inserção da amostra num fluido carregador que transporta a mesma para o detetor. Inicialmente, a injeção da amostra no fluxo de reagente era feita, empregando-se uma seringa hipodérmica, o que deu origem ao nome do processo. Com o passar do tempo, outros dispositivos foram propostos para inserção da amostra no fluido carregador: injetor proporcional ^(3,29), válvula rotativa ⁽³⁰⁾, válvula de 6 e 8 vias ^(31,32) e outros.

O mais simples diagrama de um sistema de fluxo é o de linha única (Figura 1), onde o fluido carregador pode ser o reagente, ou um carregador inerte. Em um módulo

de análise com esta configuração, a mistura da amostra com o reagente ocorre exclusivamente por dispersão, enquanto a mesma é transportada em direção ao detector.

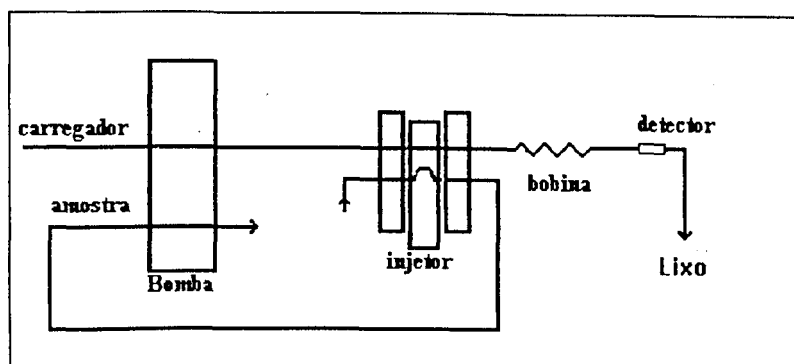


Figura 1: Sistema F.I.A. em linha única.

Quando a razão entre os volumes da alíquota de amostra e do percurso analítico é inadequada, o reagente pode não alcançar o centro da amostra, em quantidade suficiente, para satisfazer as condições para o desenvolvimento das reações químicas envolvidas. Esta limitação foi superada projetando-se os diagramas de fluxo para adição dos reagentes por confluência, e empregando-se uma solução quimicamente inerte como carregador da amostra. Quando os reagentes são adicionados por confluência, cada fração da amostra recebe a mesma quantidade do reagente. O volume da alíquota da amostra pode ser até maior que o percurso analítico, recurso que pode ser adotado para melhorar a sensibilidade. Chama-se percurso analítico o espaço percorrido pela amostra do ponto de injeção até a cela de detecção. A reação química tem início a partir da confluência, em vista disso, o percurso analítico pode ser mais curto, tendo como resultado um aumento na frequência analítica.

Empregando-se a adição do reagente por confluência, a vazão do mesmo deve ser menor que a do carregador ^(33,34), o que leva a uma diminuição do consumo de reagente. Adotando-se este conceito, ocorre uma acentuada economia de reagente, mas o mesmo é bombeado continuamente, enquanto que a presença da amostra no percurso analítico ocorre de maneira intermitente ⁽³⁵⁾. O reagente é injetado em sincronismo com a amostra, empregando alças de amostragem. A razão entre os comprimentos das alças de

amostragem do reagente e da amostra é igual a razão entre as vazões dos respectivos carregadores. Este arranjo evita o consumo de reagente na ausência da amostra.

Dentre os parâmetros, o que apresenta efeito mais acentuado é a razão entre os comprimentos da alça de amostragem e do percurso analítico ⁽³⁶⁾. Em vista disso, quando pretendemos quantificar uma determinada espécie analítica, cuja concentração é baixa, o comprimento da alça de amostragem deve ser igual ou maior que o percurso analítico. No outro extremo, quando as amostras são concentradas, podemos diminuir a razão entre alça de amostragem e o percurso analítico, impondo à amostra uma grande dispersão.

Uma característica importante do processo de fluxo, é que o módulo de análise é um sistema fechado e, uma vez introduzida a alíquota da amostra no percurso analítico, as reações químicas e a detecção ocorrem sem nenhum contato externo. Essa característica é de suma importância, quando o processo analítico é baseado na geração de uma espécie gasosa, pois evita perda da espécie analítica.

Convém ressaltar algumas vantagens do processo de fluxo, que o torna muito atraente em laboratório de análise química em larga escala. O sistema pode ser implementado com instrumentação de baixo custo, mesmo quando empregamos microcomputador para efetuar controle e aquisição de dados. Além disso, necessita-se de pouca vidraria e apresenta baixo consumo de reagentes. Este último item é de suma importância, pois, quando é inevitável o uso de um reagente poluente, o emprego deste processo de análise química, diminui o impacto ambiental que pode ser causado pelo mesmo.

Nas últimas décadas, inúmeros trabalhos envolvendo a técnica de análise em fluxo têm sido publicados na literatura ⁽³⁷⁾.

3.3 - Metodologias Analíticas para Determinação de Arsênio

Embora, vários métodos analíticos são propostos para a determinação de arsênio em amostras de interesse diversos ⁽²¹⁾, o grande desafio da análise química ainda persiste para a maioria dos químicos analíticos onde estes se deparam frequentemente com a determinação deste elemento presente em pequenas quantidades em matrizes cada vez mais complexas.

Vários elementos como o As, Sb, Bi, Ge, Se e Te, apresentam dificuldades quando determinado diretamente por Espectrometria de Absorção Atômica com chama (AAS, do inglês, Atomic Absorption Spectrometry), pois os seus comprimentos de onda são na região do ultravioleta distante (entre 190 e 230 nm) onde a absorção de fundo devido à chama é grande. Kahn e Schallis ⁽³⁸⁾ relataram 62% de absorção de fundo na chama de ar-acetileno para o arsênio no comprimento de onda de 193,7 nm. Uma alternativa para a chama de ar-acetileno, é o uso da chama de argônio-hidrogênio que pode reduzir esta absorção para 15%. Porém, o uso de temperatura mais baixa na chama (~ 300 °C) pode resultar numa maior interferência causada pela incompleta dissociação dos sais e absorção molecular ⁽³⁹⁾. A técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica é uma alternativa à chama. O uso da chama em determinação de elementos onde as linhas analíticas ótimas estão na região do ultravioleta distante (baixa) é problemático. O espalhamento da luz por material particulado, a interferência de matriz e a absorção molecular são fatores críticos.

Para elementos voláteis como o arsênio é necessário o uso de modificadores químicos a fim de reduzir a perda da espécie analítica durante as etapas de aquecimento. Uma alternativa para contornar estes problemas é converter o elemento em hidretos voláteis e, então, separá-lo da matriz e determiná-lo por Espectrometria de Absorção Atômica.

Os métodos mais usados para a detecção de arsênio são: Espectrometria de Absorção e Emissão Atômicas e Espectrometria de Massas. A Espectrometria de Emissão Atômica em Chama geralmente apresenta baixa sensibilidade e, por esta razão, não é muito utilizada. Como a instrumentação para a Espectrometria de Absorção Atômica é amplamente disponível, essa técnica é frequentemente empregada em conjunto com a Atomização Eletrotérmica (ET, do inglês, electrothermal). A Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (ET-AAS), tem sido bastante usada para análise de

diferentes tipos de amostras, devido a sua sensibilidade e exatidão ^(40,41). Entretanto para matrizes complexas como, por exemplo, água do mar onde a concentração de arsênio está abaixo do limite de detecção da técnica, em torno de $1,0 - 2,0 \mu\text{g L}^{-1}$, é necessário implementar procedimentos de pré-concentração, que dificultam o uso para análises de rotina. A Geração de Hidretos, combinada com Espectrometria de Absorção Atômica e Atomização Eletrotérmica como sistema de detecção, tem sido muito utilizada para a determinação direta de arsênio em diferentes tipos de amostras ⁽⁶⁾. Sua popularidade se deve as seguintes vantagens: separação de espécie analítica da matriz, alta eficiência na introdução da amostra resultando em boa sensibilidade e fácil automatização. Esta técnica tem se mostrado uma ferramenta útil para a separação e determinação de várias espécies de arsênio em amostras reais ⁽⁶⁾. Estas vantagens quando associadas àquelas apresentadas pela técnica de Análise por Injeção em Fluxo são de grande interesse para o desenvolvimento de novos métodos analíticos ⁽⁴²⁻⁴⁵⁾.

A geração de hidretos combinada com AAS ou ET-AAS está particularmente bem estabelecida na literatura, sendo mais adequada para a técnica de Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-AES, do inglês, Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry) porque esta técnica elimina as interferências na fase gasosa que podem ser encontradas na Espectrometria de Absorção Atômica. Para ICP-AES, um sistema de fluxo contínuo para geração de hidretos é mais apropriado que aqueles que utilizam sistemas separados, pelo fato de assegurar a estabilidade do plasma e a capacidade de determinações multi-elementares. Os hidretos podem ser separados da fase líquida por diferentes meios, sendo o mais comum um separador formado por um tubo em U, onde o hidreto é em seguida introduzido diretamente na câmara de nebulização ⁽⁴⁶⁾.

Muitas técnicas automatizadas para a determinação de traço de metais, têm atraído atenção devido à alta precisão, elevada taxa de amostragem e a possibilidade de inclusão de pré-tratamentos da amostra e pré-concentração da espécie analítica em linha. A importância das análises automáticas de rotina e monitoramento de elementos traço em várias matrizes está crescendo. Métodos empregando a técnica de fluxo são considerados os mais aceitos, pela instrumentação simples e de baixo custo, permitindo procedimentos rápidos e efetivos para a determinação de traços de diversos elementos em linha ⁽⁴⁷⁻⁵⁰⁾. A

técnica de Análise por Injeção em Fluxo e Geração de Hidretos (HG, do inglês, Hydride Generation) juntamente com Espectrometria de Absorção Atômica (FIA-HG-AAS) é um acoplamento atrativo, devido à sua simplicidade e alta sensibilidade. Estes procedimentos fazem uso dos benefícios da introdução direta da amostra, volume reduzido da mesma, diminuição da possibilidade de contaminação e do aumento da tolerância para interferentes, quando comparados aos procedimentos convencionais ^(19,51).

Outra alternativa na determinação de arsênio é a geração de hidreto e coleta do gás em tubo de grafite. Em 1986, Sturgeon et al. ⁽⁵²⁾ descreveram uma metodologia para determinação de arsênio em sedimentos marinhos, tecidos e água do mar com concentração *In Situ* em Forno de Grafite através de Geração de Hidretos e Absorção Atômica, atingindo o limite de detecção de $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ em águas do mar.

Lin e colaboradores ⁽⁵³⁾ apresentaram um sistema de geração eletroquímica de hidretos em fluxo acoplado ao Espectrômetro de Absorção Atômica usando cela resistivamente aquecida. Este sistema mostrou-se viável para determinação de As, Se e Sb em fluidos biológicos. Posteriormente, este sistema de geração eletroquímica de hidreto tem sido acoplado à Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma ^(32,21) e Absorção Atômica com Forno de Grafite ^(21,39). Na câmara eletrolítica usou-se a membrana Nafion para separação do anodo e catodo e ácido sulfúrico em diferentes concentrações como solução eletrolítica. A geração do hidreto com sistema eletroquímico, compreende, em pelo menos três eventos sequenciais; redução e deposição da espécie analítica na superfície do catodo (sítios específicos na superfície ativada), reação da espécie analítica depositada com o hidrogênio nascente ($\text{H}^{\bullet}$) gerado na superfície do catodo, e subsequente dessorção do hidreto ⁽⁵⁴⁾.

Geralmente, para estudos de especiação de arsênio orgânico são utilizados as técnicas de Cromatografia Líquida e Cromatografia Gasosa. A Cromatografia Gasosa requer que as espécies sejam voláteis e termicamente estáveis, sob o programa de temperatura escolhido para análise. A Cromatografia Líquida é mais adequada à separação de compostos não voláteis e compostos de alto peso molecular, desde que sejam escolhidas colunas adequadas e eluentes compatíveis com os componentes da amostra.

Estudos comparativos de vários métodos de Espectrometria Atômica, acoplados com Cromatografia Líquida ou Gasosa, têm sido publicados ⁽⁵⁵⁾. A Cromatografia Gasosa

acoplada à Espectrometria de Absorção Atômica apresenta-se com um método sensível para especiação de arsênio, enquanto que a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC, do inglês, High Performance Liquid Chromatography) acoplada à Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (HPLC-HG-AAS) é um método mais simples para a especiação de níveis mais altos de arsênio.

O Espectrômetro de Massas (MS, do inglês, Mass Spectrometry) com fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS), é um equipamento ideal para a determinação de elementos traço numa grande variedade de matrizes. O limite de detecção, ao nível de $\mu\text{g L}^{-1}$, e a seletividade são algumas das vantagens apresentadas por esta técnica, as quais têm expandido a sua aplicação. No entanto, algumas matrizes ainda possuem dificuldades analíticas específicas inerentes à sua composição, resultando na formação de íons poliatômicos. Por exemplo: águas estuarinas e de oceano aberto contêm altos níveis de elementos alcalinos (sódio principalmente), alcalinos-terrosos e íons cloreto. Estas matrizes requerem uma etapa de remoção desses íons antes da determinação por ICP-MS, devido à formação de íons poliatômicos (ArCl^- , ArNa^+ , OCl^+ , etc). Uma alternativa para a remoção destas interferências é a geração de hidretos. A geração de hidretos, além de separar os elementos formadores de hidreto da matriz, transporta a espécie analítica até o plasma. A utilização de membranas permeáveis a gases tem se revelado atrativa para a determinação de elementos que formam hidretos, via ICP-MS, por diversas razões. Uma vantagem das membranas para separação gás-líquido, é a remoção do sinal do cloreto residual, observado quando se empregam separadores gás-líquido convencionais. A remoção de cloreto elimina a formação de $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$ favorecendo a determinação de ultra-traços de ^{75}As . Águas estuarinas e de oceano aberto contêm altos níveis de cloreto, e quando combinado com o emprego de HCl, comumente usado no processo de geração de hidretos, produz uma matriz com concentração de cloreto extremamente alta. Então, um separador gás-líquido que minimize a introdução de cloreto ^(44, 48, 56), também reduzirá a interferência de $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$.

A geração contínua de hidreto, introduz quantidades relativamente altas de hidrogênio e água no plasma de argônio, o que reduz a sua eficiência e estabilidade. A perda de energia do plasma é importante, particularmente para um elemento tal como arsênio que tem uma energia de excitação relativamente alta, 9,81 eV, ionizando-se

somente de modo parcial no plasma de argônio. A introdução de amostras por vaporização eletrotérmica, oferece diversas vantagens sobre os sistemas convencionais. Além da grande sensibilidade e capacidade de analisar pequenos volumes (μL) de amostras, a remoção do solvente antes da análise resulta em um plasma mais quente, reduzindo as interferências poliatômicas como, por exemplo, a dos óxidos. Além disso, as interferências de matriz podem ser removidas com modificadores químicos ou volatilizados na etapa de calcinação, separando efetivamente, *in situ*, as espécies interferentes ⁽⁵⁷⁾.

Dentre as técnicas para determinação de elementos traço, a Espectrometria de Fluorescência Atômica (AFS, do inglês, Atomic Fluorescence Spectrometry) tem recebido pouca atenção. De 1960 a 1970, os métodos por Espectrometria de Absorção foram bastante utilizados. De 1970 a 1980, a Espectrometria de Emissão Atômica com fontes de Plasmas Indutivamente Acoplados e de Plasmas de Corrente Contínua Direta tornaram-se predominantes e, na década atual, a ênfase tem sido ao acoplamento direto de ICP com Espectrômetro de Massas. No entanto, a técnica de Fluorescência Atômica, oferece grandes vantagens em termos de linearidade e níveis de detecção, pois, atualmente, as condições de medida têm melhorado em função da intensidade das lâmpadas empregadas como fontes de excitação. Suas limitações, como espalhamento e ruído de fundo, dependem dos níveis de impurezas das amostras. A detecção por Fluorescência Atômica, especialmente quando acoplada à técnica de geração de hidreto, oferece sensibilidade e especificidade sendo esta sensibilidade comparável à mais alta sensibilidade oferecida por HG-ET-AAS, com um custo reduzido, devido a não se ter necessidade de utilizar tubos de grafite, oferecendo um sistema de detecção atrativo para determinação de arsênio em amostras líquidas ao nível de traços ⁽⁴⁰⁾. Muitos dos elementos formadores de hidretos, inclusive arsênio, podem ser detectados por Espectrometria de Fluorescência Atômica na região do ultravioleta, abaixo de 259 nm. Esta é a região espectral útil, porque somente uma pequena emissão de fundo (background) é observada, quando uma chama fria de baixa energia é utilizada. É claro que para se obter bons limites de detecção é necessário uma fonte de excitação de alta intensidade de radiação. Esta é, possivelmente, a razão pela qual a AFS não foi largamente utilizada no passado. Recentemente, lâmpadas com descargas elétricas do tipo BHDC (do inglês, boosted-discharge hollow cathode) tornaram-se comercialmente disponíveis e têm se mostrado uma boa fonte de excitação para a AFS ^(58,59).

3.4- Métodos Analíticos Utilizados para Especiação de Arsênio

Os sistemas analíticos que combinam digestão por microondas em linha, Geração de Hidretos e Espectrometria de Fluorescência Atômica (HG-AFS), fornecem uma abordagem única para diferenciar alguns compostos de arsênio que, até então, eram difíceis de serem separados por HPLC. Arsenito, arseniato, MMA e DMA reagem com NaBH_4 e formam facilmente hidretos voláteis, sendo detectados por AFS. Arsenobetaina, arsenocolina e TMA (tetrametilarsênio) não formam hidretos sob o mesmo tratamento químico, mas podem ser derivatizados a arsênio inorgânico por diversos métodos e, então, detectados da mesma forma.

A determinação seletiva de arsênio, tem despertado interesse em muitos laboratórios analíticos, e uma variedade de procedimentos têm sido publicada para a determinação de arsênio inorgânico, orgânico e total em águas, sedimentos e materiais biológicos.

A determinação de arsênio total pode ser difícil se houver resíduo de matéria orgânica, tornando-se crítica nos casos em que o mesmo está presente como derivados organo-metálicos. Neste caso, a preparação da amostra requer digestão prolongada, em presença de agentes oxidantes, para degradação total da matéria orgânica. Podem ser utilizados vários procedimentos para eliminação da matéria orgânica, entre eles a decomposição em meio alcalino com persulfato de potássio em bomba de Tetfon⁽⁶⁰⁾ e digestão por via seca seguida de lixiviação com ácidos, estes feitos em batelada⁽⁵⁶⁾.

Vários procedimentos utilizam Análise por Injeção em Fluxo seguida por decomposição em forno microondas com persulfato de potássio e hidróxido de sódio^(26,61, 62); decomposição ácida em fornos de microondas^(63,64), decomposição com mistura de ácidos a temperaturas elevadas^(17,22); digestão com dicromato de potássio e misturas de ácidos, seguida por ataque com peróxido de hidrogênio⁽²⁷⁾, fotooxidação com persulfato de potássio em meio alcalino⁽¹¹⁾ e termooxidação com persulfato de potássio em meio alcalino⁽⁶⁵⁾.

A geração de hidreto tem sido usada na especiação de arsênio desde 1973 onde introduziu-se a etapa por resfriamento no sistema de geração de hidreto⁽⁶⁶⁾. Este método para a determinação de arsênio, utiliza, geralmente, como agente redutor o borohidreto de sódio⁽⁶⁷⁾ (NaBH_4). Entretanto, a utilização deste redutor tem algumas desvantagens: o

reagente pode introduzir contaminação, suas soluções aquosas são instáveis e devem ser preparadas para uso imediato ⁽⁶⁸⁾. Uma alternativa para aumentar a estabilidade desta solução é aumentar a alcalinização com hidróxido de potássio ou sódio.

O método da geração de hidreto aumenta a eficiência de transporte do arsênio até o detector e possui boa sensibilidade, mas o número de compostos que podem ser determinados por este método é restrito. Uma séria limitação do mesmo é que o NaBH_4 não forma um produto volátil com algumas espécies de arsênio. Isto inclui muitos compostos tais como: arsenobetaina, arsenocolina e arsênio-açúcares ⁽¹¹⁾. Arsenito e arseniato formam AsH_3 , MMA forma CH_3AsH_2 e DMA forma $(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$, pela reação com NaBH_4 , sendo que a formação destes hidretos é dependente da acidez do meio reacional ⁽⁶¹⁾.

Alguns pesquisadores ⁽⁶¹⁾ estudaram as condições experimentais para a determinação seletiva de espécies do arsênio, particularmente a concentração de NaBH_4 e do ácido utilizado, tanto em procedimentos discretos quanto em fluxo contínuo. Entretanto, devido à variedade de configurações e condições, é difícil obter-se uma descrição clara de como estes fatores influenciaram a sensibilidade das medidas, sendo que a acidez é um fator importante. Foi observado que o sinal analítico para As (III) varia pouco para uma grande faixa de concentração de ácido ⁽⁵¹⁾. Já para As (V) o sinal analítico só é obtido quando a concentração de ácido é alta ⁽⁵¹⁾, entre 4,0 e 5,0 mol L^{-1} . Isto acontece porque As (V) é reduzido a As (III) antes da conversão em AsH_3 e o potencial de redução para esta reação é dependente da cinética de reação e do pH, pois cada espécie precisa estar protonada para formação do hidreto volátil ⁽¹¹⁾. Para MMA e DMA, o sinal analítico diminui para concentrações de ácidos acima de 0,025 mol L^{-1} em HCl ⁽⁵¹⁾ ou 0,1 mol L^{-1} em HCl ⁽⁶¹⁾. Logo, respostas idênticas não podem ser obtidas para as quatro espécies de arsênio (arsenito, arseniato, MMA e DMA), quando a mesma concentração de ácido é usada. Para contornar este problema, foi estudada a adição de L-cisteína ⁽⁶¹⁾ que reduz as espécies arseniato, MMA e DMA ao seu estado trivalente antes da reação com NaBH_4 , tendo sido obtidas respostas idênticas de absorbância para as quatro espécies, em uma mesma faixa de concentração de 0,3 - 0,7 mol L^{-1} de HCl. Logo, como a L-cisteína não afeta a arsina produzida para cada espécie individual de arsênio, torna-se então aplicável não somente à determinação de arsênio total, mas também aos estudos de especiação. Compostos

orgânicos de arsênio como arsenobetaina, arsenocolina e o íon tetrametilarsônio $[(CH_3)_4As^+]$ não formam hidretos, com ou sem redução prévia com L-cisteína. No entanto, após decomposição destas espécies por diferentes métodos, como os citados acima, recuperações quantitativas podem ser obtidas, já que são convertidos a arseniato/arsenito ⁽⁶¹⁾.

Para a determinação de arsênio inorgânico em materiais biológicos, nos estados de oxidação (III) e (V), ou arsênio inorgânico total, devem ser consideradas as seguintes etapas: o estágio de formação do hidreto, a separação da forma inorgânica da forma orgânica e a determinação do arsênio. Na literatura pode-se encontrar diversas alternativas para cada estágio, que incluem desde uma série de extrações ⁽⁶⁰⁾, até separações desenvolvidas em diferentes estágios ⁽⁶⁹⁾, aumentando a complexidade do processo, especialmente quando arsênio é determinado em amostras sólidas, onde uma série de extrações e purificações sucessivas precisam ser feitas ⁽⁵⁶⁾.

Para arsênio inorgânico, normalmente determina-se As (III) por geração de hidreto com $NaBH_4$ em uma faixa ácida ampla ⁽⁶¹⁾ e também por geração eletroquímica de hidreto ⁽⁷⁰⁾. Na presença de baixas concentrações de organo-arsênicos, determina-se As (III) ajustando o meio a pH 4,5 com tampão citrato / ácido cítrico, que inibe a redução de As (V) à arsina e, conseqüentemente, aumenta a seletividade para As(III) ⁽⁷⁰⁾.

O método mais promissor combina a formação e separação de arsênio inorgânico, com baixo custo e com facilidade de operação ⁽⁵⁶⁾, baseado na destilação convencional de As(III) como $AsCl_3$ em presença de HCl concentrado. Entretanto, a destilação consome tempo e ainda não está estabelecido se ocorre a degradação de espécies de arsênio orgânico sob estas condições. A destilação de $AsCl_3$ é eficiente e econômica quando comparada com os procedimentos individuais de extração seletiva.

Para determinação de arsênio inorgânico total [As (III) – As (V)], faz-se a redução do As (V) a As (III) e determina-se o arsênio inorgânico total como As (III). Na etapa de redução podem ser utilizados diferentes redutores: KI ^(7,28,46), tiouréia ⁽⁴⁶⁾ e L-cisteína ^(55,61,63,68). O KI é utilizado em meio fortemente ácido ^(7,28,46) sendo esta uma grande desvantagem deste redutor, pois é necessário uma alta concentração de HCl para que a redução se complete ⁽⁶³⁾. O KI pode ser utilizado na presença de ácido ascórbico ^(46,68) que é utilizado para prevenir a oxidação do iodeto pelo oxigênio atmosférico. Em amostras

tratadas com ácidos oxidantes ou contendo agentes oxidantes, são formadas quantidades significativas de triiodeto (I_3^-), já que a quantidade de KI necessária para redução também é grande. O iodo precisa ser retirado da solução antes da adição de $NaBH_4$, o que pode provocar perdas no gerador⁽⁷⁰⁻⁷³⁾.

A L-cisteína (2-amino-3-ácido mercaptopropionico), $HS-CH_2-CHNH_2-COOH$, nomeada como HSR, comporta-se como um redutor em solução aquosa, sendo oxidada para a forma de dissulfeto (3,3'-ditio-bis(2-ácido aminopropionico), $HOOC-CHNH_2-CH_2-S-S-CH_2-CHNH_2-COOH$, nomeada como RSSR, de acordo com a reação esquematizada⁽⁷⁴⁾:



As vantagens de se usar a L-cisteína em relação ao KI são : pode ser usada em baixas concentrações de ácidos⁽⁵⁵⁾ sendo estável e livre de interferências^(61,63), é um redutor mais rápido e mais eficiente; melhor sensibilidade; valor de sinal de branco menor; tem condições mais amenas na geração do hidreto, resultando em menor produção de hidrogênio, e assim menor perturbação no sistema⁽⁷⁴⁾.

Uma alternativa para a especiação de arsênio inorgânico é determinar o As(V) pela diferença entre o arsênio inorgânico total e o As(III)⁽⁷⁵⁻⁷⁸⁾.

A determinação de arsênio orgânico é um pouco mais complicada, pois MMA e DMA formam hidretos voláteis, mas não a arsenobetaina, a arsenocolina e os arseno-açúcares, que, para serem determinados, necessitam ser transformados em arsênio inorgânico, e determinados como arsênio total.

A determinação quantitativa de uma mistura de espécies de arsênio, em matrizes complexas, normalmente requer a separação das espécies de interesse através da determinação de arsênio por um método cromatográfico e, em seguida um sistema de detecção adequado. A sofisticação do método de separação pode variar de um simples sistema de resfriamento⁽⁶¹⁾ à utilização de HPLC^(9,11,13,26).

Nos últimos dez anos, foram desenvolvidos métodos para especiação de baixas concentrações de arsênio, orgânico e inorgânico, em diversas matrizes, acoplando as técnicas cromatográficas - gasosa e líquida, com um detetor específico ⁽⁷⁹⁾.

A redução de arsênio inorgânico, MMA e DMA, para gerar os hidretos voláteis correspondentes, é um modo excelente para isolar as várias espécies de arsênio de suas matrizes. Esses hidretos podem ser retidos em colunas cromatográficas e liberados seletivamente, por aquecimento, antes da detecção. Embora esse método seja sensível, sua precisão e recuperação é dependente das condições experimentais, como a vazão do carregador, o tipo de fase adsorvente e o tamanho da coluna. Outros métodos utilizam a extração com solventes para a separação das espécies de arsênio antes da detecção. A principal desvantagem é que o limite de detecção não é suficiente e são necessárias grandes quantidades de amostra ⁽⁸⁰⁾.

Para utilizar HG-AAS na determinação de todas as espécies solúveis de arsênio, é necessária a conversão dos organoarsênicos em espécies reativas à formação de hidretos. Isto pode ser alcançado por procedimentos de digestão ácida ou básica, em série, na qual todas as espécies de arsênio são convertidas em arsênio inorgânico. Entretanto, estes procedimentos são trabalhosos, lentos e impraticáveis, quando se tem um grande número de amostras ⁽⁸¹⁾.

3.5 – Método de geração de hidretos

3.5.1 – Princípio do método

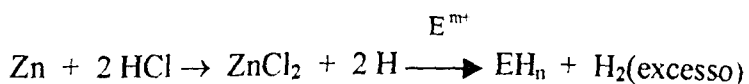
Um dos métodos mais usados para a determinação de arsênio é o método Espectrométrico de Absorção Atômica com Atomizadores Eletrotérmicos aliada à técnica de Geração de Hidretos.

A Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos é um método aplicado para a determinação de elementos traço em uma variedade de matrizes. Ela foi introduzida por volta de 1970 devido aos problemas associados com as determinações de As ⁽⁸²⁾ e Se por AAS por chama. Desde então as determinações foram estendidas aos elementos As, Bi, Ge, Pb, Sn, Te e Se ⁽⁸³⁾.

A técnica de geração de hidretos baseia-se na conversão da espécie de interesse em hidreto covalente gasoso que, por meio de um gás de arraste, é transportados à cela de atomização, para dissociação térmica em seus átomos. As etapas do sistema de geração de hidretos, com subsequente detecção por AAS são ⁽⁸²⁾:

- Geração do hidreto;
- Coleta do hidreto;
- Transporte do hidreto;
- Atomização do hidreto.

Para obter maior sensibilidade é necessário gerar o hidreto rapidamente ou coletá-lo e , então, transferi-lo tão rapidamente quanto possível para o atomizador. Isto diminui a diluição do hidreto no gás de arraste. Vários reagentes são usados para converter a espécie analítica em seu hidreto. Os primeiros trabalhos utilizaram um sistema de redução metal – ácido. O método de redução Zn / HCl usado por Holak ⁽⁸²⁾ foi o primeiro sistema a ganhar aceitação. A geração processa-se de acordo com a seguinte reação ⁽³⁹⁾.



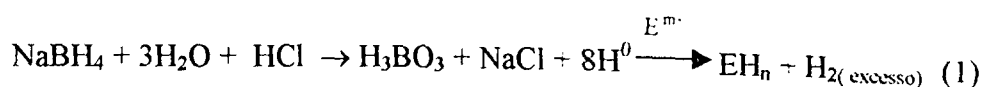
Onde **m** e **n** pode ou não serem iguais, **E** é o elemento de interesse. Nesta técnica, as amostras ácidas, em solução, são tratadas com agente redutor para gerar hidretos covalentes. O hidreto formado é transportado do recipiente de reação através de um gás inerte (geralmente argônio ou nitrogênio) para o atomizador.

O alumínio em pó também pode ser utilizado para gerar AsH₃, SbH₃ e SeH₂. Pollock e West ⁽⁸⁴⁾ usaram uma mistura de magnésio metálico e cloreto de titânio (III) para não gerar somente AsH₃, SbH₃ e SeH₂, mas também BiH₃ e TeH₂. A técnica de geração metal / ácido apresenta vários inconvenientes. Foi observado que a reação é lenta, a adição de metal dificulta ainda mais a automatização e somente os hidretos de arsênio, antimônio e selênio tem satisfatoriamente sido formados ⁽⁸⁴⁾.

Inicialmente, o zinco metálico em meio ácido foi o redutor mais utilizado. Porém, hoje o borohidreto de sódio (NaBH_4), recomendado desde 1974 por Thompson e Thomerson⁽⁸⁵⁾, é o redutor mais freqüentemente usado. Este reagente leva a formação rápida de hidretos de diversos elementos.

O borohidreto de sódio (NaBH_4) é um reagente versátil que tem se tornado largamente usado, devido a suas propriedades redutoras e como fonte para a geração do hidreto⁽⁶⁷⁾.

A redução utilizando borohidreto de sódio (NaBH_4) em meio ácido, se dá de acordo com a equação 1:



onde **E** é a espécie analítica de interesse e **m** pode ser igual a **n**.

A solução de NaBH_4 é mais eficiente e é preferível principalmente nos sistemas de fluxo contínuo. A concentração de NaBH_4 depende da espécie analítica em particular e do sistema de geração de hidretos. Os trabalhos na literatura recomendam o uso da solução de NaBH_4 na faixa de 0,5 – 10 % m/v em solução aquosa estabilizada por 0,1 – 2 % m/v de KOH ou NaOH⁽⁶⁷⁾. No sistema NaBH_4 – ácido, o HCl é mais usado, embora H_2SO_4 e HNO_3 possam ser usados. A acidez depende do elemento de interesse e do tipo de gerador do hidreto. Alguns ácidos orgânicos com tartárico, málico e oxálico são usados como alternativas ao HCl na determinação de Ge, Pb e Sn.

A técnica de geração eletroquímica de hidretos é uma proposta para converter a espécie analítica em seu hidreto volátil. Brockmann et al.⁽³³⁾ utilizaram uma cela eletroquímica contendo dois eletrodos de Pt para a geração do hidreto de arsênio, seguida da determinação por Espectrometria de Absorção Atômica. A principal vantagem apresentada no sistema proposto por Brockmann et al.⁽³³⁾ é o menor efeito de interferência devido aos metais de transição.

Uma das vantagens do método de geração de hidretos é a simplicidade do equipamento, o qual permite que o método seja usado num Espectrômetro de Absorção Atômica por Chama. A maioria dos equipamentos são modificados para automatizar o

sistema, facilitar a adição de reagentes, diminuir o tempo da análise e reduzir as interferências. No sistema de geração de hidretos mais simples, o hidreto gerado e o H_2 são transportados imediatamente para o atomizador por meio de um gás de arraste. Nos sistemas de fluxo contínuo a solução da amostra e a solução de $NaBH_4$ são continuamente introduzidas com vazões constantes no gerador usando uma bomba peristáltica. Este tipo de equipamento é usado para a geração do hidreto onde é separado utilizando separadores gás-líquido convencionais ⁽³⁴⁾ ou separação por membrana. ⁽³⁹⁾. Estes sistemas têm a vantagem de misturar os reagentes com controle de pH e são mais tolerantes a elementos que interferem na técnica de geração de hidretos. Os sistemas de geração de hidretos em fluxo têm o limite de detecção menor do que os sistemas discretos. Para os sistemas automatizados, o método se mostra mais tolerável ao efeito do HNO_3 em amostras digeridas quando aplicadas à determinação de As e Se em diferentes matrizes ⁽³⁶⁾. Estes sistemas apresentam boa recuperação na presença de muitos metais que interferem na geração de hidretos.

No sistema de injeção em fluxo, o ácido e $NaBH_4$ fluem à vazões constantes no gerador e um volume limitado de amostra é injetado na corrente do ácido. A técnica de Espectrometria de Absorção Atômica tem apresentado vantagens quando associada à técnica de Análise por Injeção em fluxo como: maior frequência analítica, melhor seletividade, maior sensibilidade e menor consumo de reagentes ⁽³⁵⁾.

Uma vez que o hidreto é gerado, este pode ser transportado à cela de atomização de duas maneiras: o hidreto é arrastado diretamente ao atomizador da mesma maneira que é gerado ou é coletado e então transferido para o atomizador. O hidreto gerado pode ser coletado em recipiente fechado sob pressão ⁽³⁶⁾, em um tubo - U imerso em nitrogênio líquido ⁽³⁶⁾ através do qual passa H_2 a frio e então a coleta é feita em uma solução de $HgCl_2$ - H_2SO_4 - $KMnO_4$ ⁽⁸⁵⁾, KI - I_2 ⁽⁸⁷⁾, e subseqüentemente determinado por Espectrometria de Absorção Atômica. Vários métodos de transferência direta são usados: módulo de fluxo contínuo ⁽³⁶⁾, módulo de injeção em fluxo ⁽³⁵⁾ e módulo em série ⁽⁸²⁾. A etapa de coleta pode eliminar a possível influência da cinética de geração do hidreto. A estabilidade do hidreto é importante no caso da transferência e coleta (sob pressão e a frio) não sendo recomendado a etapa de coleta para hidretos muito instáveis.

3.5.2 – Atomização e mecanismos de atomização de hidretos

Nos primeiros trabalhos com geração de hidretos, Holak ⁽⁸²⁾ usou a chama convencional de ar – acetileno, mas esta chama foi substituída por uma de H_2 – argônio ⁽³⁵⁾. A atomização por chama é inferior a outros tipos de atomizadores. A sensibilidade é menor devido a diluição do hidreto com os gases de chama. Além disso, a chama apresenta alto valor de absorção de fundo e o ruído afeta o limite de detecção. Portanto, a chama não é recomendada para a determinação de arsênio e de outros elementos que geram hidretos, como o selênio.

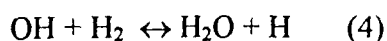
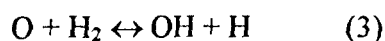
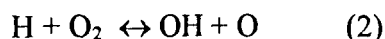
O uso de atomizadores de quartzo aquecidos eletricamente ⁽⁸⁷⁾ ou aquecidos em chama ⁽⁸⁵⁾ para a técnica de geração de hidreto foi proposto por Chu et al. em 1972 e Thompson e Thomerson em 1974, respectivamente. Desde então, os tubos de quartzo aquecidos externamente tornaram-se os atomizadores mais usados ⁽⁸⁸⁾. Estes atomizadores consistem de tubos em forma de T os quais são alinhados no caminho ótico do aparelho. O tubo central é aquecido eletricamente por uma resistência enrolada no tubo. As duas saídas deste tubo podem ser abertas ou fechadas com janelas de quartzo. Quando as saídas do tubo central estão abertas pode ocorrer a ignição do H_2 na saída do tubo. O problema deve ser contornado com a passagem de uma corrente de gás inerte na entrada do segundo tubo perpendicular ao tubo central. Outra maneira de evitar a ignição do H_2 é não aquecer as saídas do tubo ⁽⁸⁹⁾.

Existe um efeito marcante na qualidade da superfície interna do tubo de quartzo na sensibilidade do método ⁽⁹⁰⁾. A superfície do tubo pode ser condicionada com HF 40 % ou então, com alumina ⁽⁹¹⁾. Quando comparados com atomizadores com chama, os tubos de quartzo aquecidos externamente têm as seguintes vantagens : o sinal de fundo gerado pela chama é eliminado, há melhor sensibilidade devido ao maior tempo de residência do elemento no caminho ótico e menor diluição do hidreto.

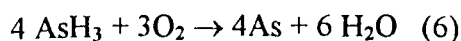
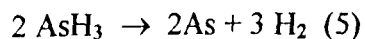
A atomização de hidretos gasosos em tubos de quartzo aquecidos se deve, predominantemente, a átomos de hidrogênio livres e não pela decomposição térmica. De acordo com cálculos termodinâmicos somente moléculas diméricas, e não átomos, podem ser esperadas à temperatura abaixo de $1000^{\circ}C$. É comprovado que nenhum sinal de

atomização é obtido para arsênio quando a arsina é introduzida em uma cela de quartzo aquecida em atmosfera de gás inerte, isto é, na ausência de hidrogênio ⁽⁹²⁾.

Embora o mecanismo de formação de radicais não seja plenamente entendido, a presença de traços de oxigênio é importante na formação de radicais de acordo com as seguintes reações ⁽⁸⁷⁾ :



O mecanismo de atomização do hidreto provavelmente procede via interação de espécies com átomos de hidrogênio. Com base na concentração do equilíbrio de radicais livres e a temperatura predominante em tubos de quartzo, os seguintes mecanismos são propostos para a atomização da AsH_3 ⁽⁹³⁾ :



as quais são catalisadas por radicais $\text{H}^\bullet$ e $\text{OH}^\bullet$. Um mecanismo similar é sugerido para a decomposição de SeH_2 .

O efeito do oxigênio e do hidrogênio na atomização dos elementos que formam hidretos em atomizadores de tubos de quartzo aquecidos são indicados para determinação de As, Se, Bi, Sb e Sn ⁽⁹²⁾ . Provavelmente estes gases são usados para formarem radicais, os quais devem participar nas reações como das equações 2 e 6.

3.5.3 – Interferentes e mascarantes na técnica de geração de hidretos

A técnica de Espectrometria de Absorção Atômica combinada à Geração de Hidretos com atomizadores eletrotérmicos tem sido utilizada para a determinação de elementos traço ⁽³⁹⁾. No entanto, esta técnica apresenta interferências que podem ser divididas em dois grupos : interferência em fase líquida e interferência em fase gasosa.

A interferência em fase líquida ocorre durante a formação do hidreto ou durante a transferência do hidreto da solução devido à mudanças na velocidade de formação do hidreto e/ ou diminuição na eficiência de formação do hidreto.

A interferência na fase líquida pode ser dividida em dois grupos : interferências devido a elementos que têm diferentes estados de oxidação e interferências devido ao efeito de matriz ⁽⁸⁸⁾.

A interferência de elementos com diferentes estados de oxidação ocorre devido ao estado de oxidação da espécie analítica na amostra não ser o mesmo que o estado de oxidação da solução padrão. Alguns elementos como: As, Sb, Se e Te podem existir na solução em dois estados de oxidação. Estes elementos quando presentes em amostras ambientais e biológicas existem em várias formas orgânicas. Neste caso, é necessário decompor completamente o material orgânico durante o pré-tratamento da amostra para a determinação da espécie analítica de interesse.

A interferência devido ao efeito de matriz ocorre quando a matriz afeta a eficiência da formação do hidreto. Neste caso, alguns ácidos inorgânicos usados em procedimentos de digestão da amostra afetam drasticamente a geração do hidreto de interesse. A interferência destes ácidos é maior em atomizadores de tubos fechados do que em tubos de quartzo abertos ⁽⁹⁴⁾. Metais alcalinos e alcalino-terrosos não interferem na técnica de geração de hidretos, mas os metais que podem ser reduzidos facilmente pelo NaBH_4 interferem na geração de hidretos, por exemplo: o cobalto(II), o níquel(II), os elementos do grupo do cobre(II) e os metais nobres ⁽⁹⁵⁾. Estes metais interferem na técnica de geração de hidretos.

Embora alguns autores mencionem o efeito de interferência de elementos na fase líquida, pouca informação se sabe a respeito do possível mecanismo. Alguns mecanismos são propostos na literatura. Smith ⁽⁹⁵⁾ propôs a redução preferencial do metal interferente

para menor estado de oxidação ou para o estado fundamental. Neste caso, o metal precipitado pode causar a coprecipitação do elemento de interesse, portanto, absorvendo o hidreto formado, decompondo-o cataliticamente ou retardando sua geração na solução.

Pierce e Brown ⁽⁹⁶⁾ mostraram que a ordem de adição da solução de HCl e de NaBH₄ num sistema automatizado causa diferença significativa nos resultados analíticos para a determinação de arsênio e selênio. Se o NaBH₄ é adicionado primeiro, observa-se a formação de um precipitado coloidal. Este precipitado formado, o qual pode conter cobalto, níquel e prata, diminui o sinal analítico do arsênio. Eles sugeriram, então, que estes íons interferentes competem com o arsênio para a redução e o consumo do agente redutor. Não foi observada nenhuma interferência destes íons quando a solução de HCl é adicionada antes da solução de NaBH₄.

Kirkbright e Taddia ⁽⁹⁷⁾ também notaram a presença dos elementos níquel, paládio e platina, depois da adição do redutor, um precipitado preto finamente disperso é formado. Eles explicaram que o menor efeito de interferência, aumentando a acidez da solução, é devido a maior solubilidade dos metais interferentes em meio ácido. Os vários íons metálicos de transição formam complexos em meio de HCl. Os complexos formados são provavelmente responsáveis pela maior faixa de determinação dos hidretos livres do efeito de interferência de Co²⁺, Fe²⁺ e Ni²⁺ em HCl 5,0 mol L⁻¹.

A interferência na fase gasosa pode ser dividida em dois grupos : a interferência devido ao transporte do reator para o atomizador, causando decréscimo e / ou perda da espécie analítica; e a interferência durante a atomização, a qual depende do mecanismo de atomização do hidreto e da espécie analítica num determinado tipo de atomizador.

Considerando o mecanismo de atomização do hidreto e a presença de átomos livres da espécie analítica transferida ao atomizador, dois tipos de interferências de atomização podem existir ⁽⁸⁵⁾: a interferência populacional de radicais que ocorre quando o interferente muda a população de átomos de hidrogênio; e a interferência causada quando um elemento diminui os átomos livres da espécie analítica devido às reações da espécie analítica com o interferente na fase gasosa.

O mecanismo de interferência em tubos de quartzo aquecidos externamente é ainda desconhecido. As interferências neste tipo de atomizadores devem ser resultados da formação de moléculas diatômicas estáveis como AsSb ⁽⁹⁸⁾. De acordo com cálculos

termodinâmicos, a formação de moléculas diatômicas entre a espécie analítica (arsênio) e a matriz é indicada como a maior fonte de interferência de matriz na fase gasosa em atomizadores de forno de grafite⁽⁹⁸⁾.

A identificação dos íons interferentes e procedimentos para eliminar ou, pelo menos, minimizar os seus efeitos são importantes para o desenvolvimento do método analítico. A presença e o efeito crítico destes interferentes dependem das condições experimentais, do sistema de geração do hidreto e do atomizador usado. Diferentes estratégias são utilizadas para eliminar ou minimizar a interferência dos elementos tanto na fase líquida quanto na fase gasosa.

O procedimento mais simples é aumentar a acidez do meio reacional⁽⁹⁹⁾. Um outro procedimento é alterar a quantidade de NaBH_4 ⁽¹⁰⁰⁾. Vários reagentes são usados para minimizar e eliminar interferentes. A maioria deles são bases de Lewis que podem funcionar como ligantes, sendo que alguns são agentes redutores, com EDTA⁽¹⁰¹⁾, KI ⁽¹⁰²⁾, KCN ⁽¹⁰³⁾, tiouréia⁽¹⁰²⁾, ácido ascórbico⁽¹⁰²⁾, 1,10 – fenantrolina⁽¹⁰⁴⁾, tiosemicarbazida⁽¹⁰⁵⁾ e L – cisteína⁽¹⁰⁵⁾. Alguns metais como ferro⁽¹⁰⁶⁾, cobre⁽¹⁰⁷⁾, telúrio⁽¹⁰⁸⁾ e mercúrio⁽¹⁰⁹⁾ são empregados para minimizar o efeito de interferentes de alguns íons metálicos.

Fleming e Ide⁽¹¹⁰⁾ encontraram uma forte interferência do níquel e de outros metais de transição na determinação de elementos que formam hidretos na ausência de ferro(III). Na presença de ferro(III), no entanto, a maioria destas interferências desaparecem. Neste caso, as amostras de ligas metálicas podem ser analisadas sem grandes problemas. O efeito do ferro torna-se aparente na determinação do As e Se em efluentes industriais onde a interferência do níquel pode ser minimizada na presença de altas concentrações de ferro. O efeito do ferro(III) é devido a redução preferencial desta espécie antes da redução de íons níquel para o estado elementar, o qual então adsorve e decompõe o hidreto formado.

As técnicas de separação por extração líquido-líquido⁽¹¹¹⁾ e coprecipitação⁽¹¹²⁾ são também utilizadas para minimizar a interferência de alguns elementos.

Thompson et al.⁽¹¹³⁾ aplicaram a coprecipitação com óxido de lantânio para a separação de elementos que formam hidretos em matrizes contendo alto teor de cobre. As interferências do níquel e de outros metais de transição foram contornadas.

Estudos mais recentes utilizam resinas de troca iônica para separar os elementos interferentes da espécie analítica.

Fador e Barnes ⁽¹¹⁴⁾ usaram uma resina contendo poliditiocarbamato para remover Al, Sb, Bi, Te e Sn em amostras de urina. O uso da resina Chelex 100 foi avaliada para remover interferentes na determinação de Sb, As e Se ⁽¹¹⁵⁾.

De acordo com Howard e Arbar-Zaver ⁽¹¹⁶⁾, os efeitos de Ag(I), Au(III), Cr(VI), Fe(III), Ge(IV), Mo(VI), Sb(III), Sb(V) e Mn(VII) são eliminados com o uso de solução de 0,02 mol L⁻¹ de EDTA ou com a resina Chelex 100.

Kingston et al. ⁽¹¹⁷⁾ descreveram um método para determinar vários metais em água de mar utilizando resina Chelex 100. O pH foi ajustado em 5,0 a 5,5 e, então a amostra foi passada pela resina contida em uma coluna. Solução de ácido nítrico 2,5 mol L⁻¹ foi utilizado como eluente.

Hershey e Keliher ⁽¹¹⁸⁾ utilizaram resinas de troca iônica para reduzir interferências de elementos na determinação de As e Se. As resinas estudadas foram Chelex 100, AG 50W-X16 e Dowex 50W-X16. O procedimento proposto utiliza sistemas discretos e mini-colunas. O efeito do pH para a remoção dos metais foi avaliado. De acordo com estes autores, o procedimento em mini-colunas é mais eficiente que os sistemas discretos.

Os procedimentos de separação por troca iônica utilizando a técnica de Análise por Injeção em Fluxo apresentam vantagens em relação aos métodos discretos tais como: menor consumo de amostra e reagente, maior eficiência de separação e simplicidade de operação ⁽¹¹⁹⁾. Em virtude destas vantagens, tais procedimentos constituem etapas alternativas eficazes para a minimização do efeito de interferentes para o desenvolvimento do método analítico.

4 – PARTE EXPERIMENTAL

4.1 – Metodologia Analítica

4.1.1 – Sistema por Injeção em Fluxo

A configuração do sistema A.I.F. que foi empregada na determinação de arsênio (III e V) está representada na Figura 2. Foi utilizado o sistema de zonas coalescentes que consistiu na introdução simultânea de volumes iguais de amostra e de reagente redutor, em fluxos de carregadores separados de mesma vazão, para garantir a perfeita mistura das soluções. Neste caso, a amostra e o agente redutor (NaBH_4) foram introduzidos em linhas de carregadores de ácido clorídrico e água desionizada, respectivamente.

A arsina gerada foi separada da fase líquida no separador gás-líquido (Figura 3), usando N_2 com o gás de arraste, sendo transportado ao atomizador eletrotérmico (Figura 4). O atomizador eletrotérmico foi construído com tubos de quartzo, onde o tubo(a) funciona como câmara de atomização de 17 cm de comprimento e 0,8 cm de diâmetro interno. O atomizador, tubo (a), foi enrolado em um fio Ni-Cr e a seguir, com fio de amianto para o isolamento térmico. Para a atomização do hidreto de arsênio (arsina) foi necessária uma temperatura adequada, obtida através da resistência de Ni-Cr conectada a um regulador de voltagem. Varivolt (Aujl).

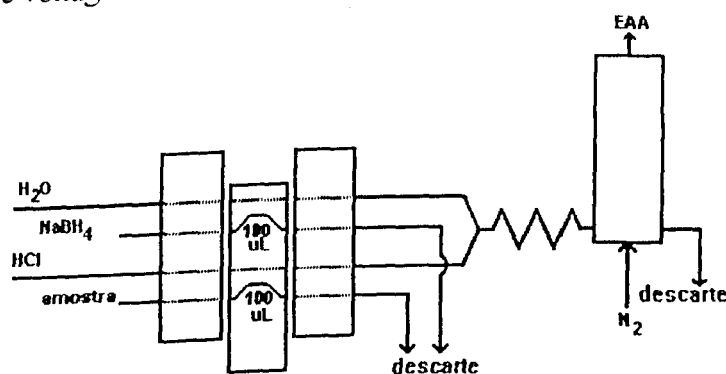


Figura 2 : Sistema A.I.F. de zonas coalescentes em confluência utilizado para a determinação de arsênio (III e V).

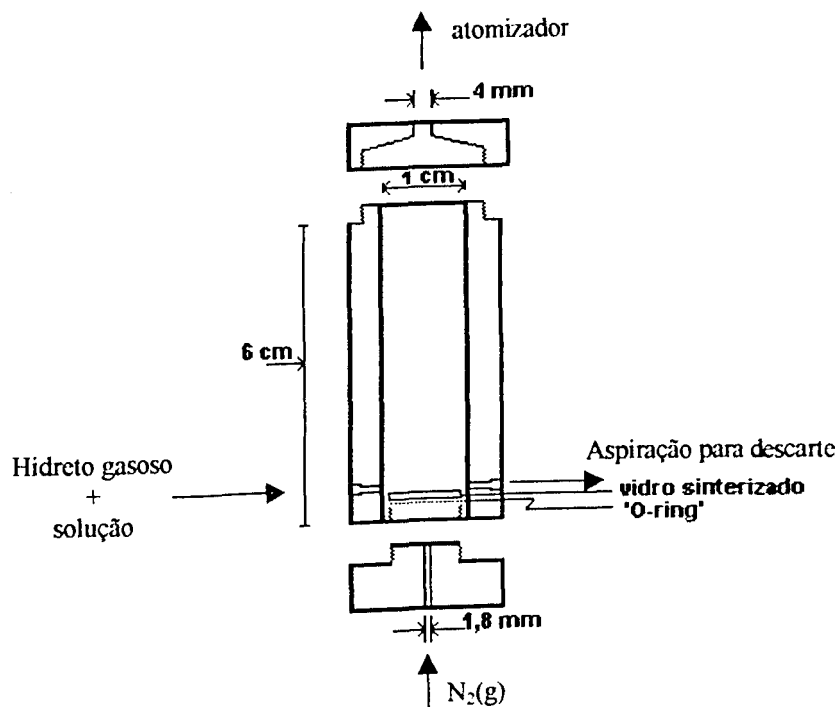


Figura 3: Separador Gás-Líquido

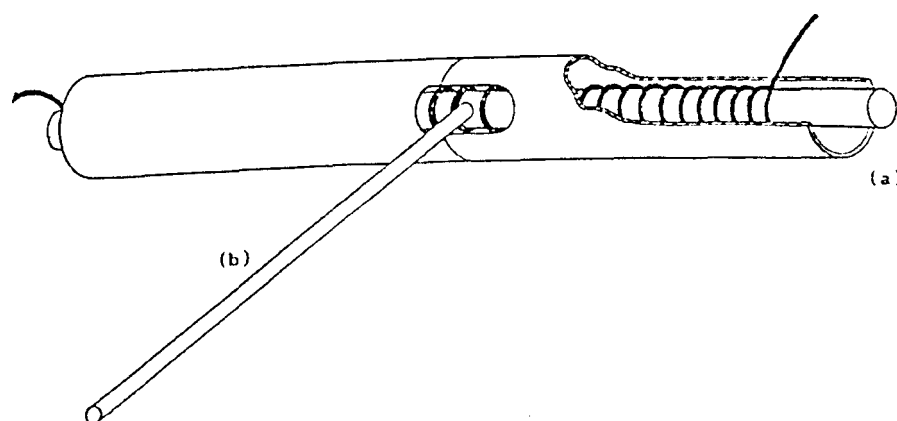


Figura 4: Atomizador

Utilizando-se um injetor, a amostra e o agente redutor foram inseridos nos seus respectivos carregadores através de uma bomba peristáltica (Minipuls 3 – Gilson), onde posteriormente num ponto de confluência, a amostra é misturada com o redutor gerando a arsina, isto ocorre no decorrer da bobina de reação. Após a reação, a arsina segue para o separador gás-líquido, que se encontra conectado ao tubo **b** da cela de atomização. Na cela de atomização (tubo **a**), a qual encontra-se à uma temperatura de 900°C, ocorre a

atomização do hidreto. Esta cela de atomização é colocada no equipamento (Varian SpectrAA-220), em substituição ao queimador, de forma que o feixe ótico passa no interior da cela de atomização, e assim, pode-se obter o sinal analítico (absorbância) para o arsênio.

4.1.2 – Preparação e Calibração do Atomizador

O atomizador foi lavado com HF (1:10, v/v) durante um tempo de 10-15 minutos e, após, com água desionizada. Depois de seco, o atomizador foi tratado com solução silanizante (diclorodimetilsilano 5% (m/v) em tolueno), por aproximadamente 5 horas. Tal tratamento evita a presença de sítios ativos que catalisam a recombinação de radicais H e OH durante o mecanismo de atomização⁽⁹⁰⁾. Depois da silanização, o atomizador foi seco em estufa a 110°C. Finalmente, uma corrente de nitrogênio é passada por 5 minutos, para remoção de resíduos de material orgânico.

De acordo com a literatura⁽⁹¹⁾, para a atomização da arsina é necessário uma temperatura de aproximadamente 900⁰ C. Para determinar a temperatura no interior do atomizador variou-se a voltagem do Varivolt e com um termopar a temperatura foi determinada em diferentes posições.

4.1.3 – Reagentes e soluções de referência:

As soluções utilizadas neste estudo foram preparadas usando água desionizada e reagentes de grau analítico, usando balões volumétricos para o acerto de volumes finais. Frascos de polietileno foram empregados na estocagem das soluções.

- **Solução - estoque de arsênio (III) 1000 mg L⁻¹:** Dissolveu-se 1,3203 g de dióxido de arsênio (As₂O₃, Vetec) em solução de NaOH 20% m/v e neutralizou-se com HNO₃, em 1 L de água desionizada. As soluções padrão de arsênio (III), de concentrações variáveis foram obtidas por diluição adequada da solução estoque de arsênio(III). Estas diluições foram feitas empregando-se microbureta de vidro.

- **Solução - estoque de arsênio (V) 1000 mg L⁻¹:** Preparada a partir 1,0420 g de arsenato de sódio (Na₂HAsO₄·7H₂O, Nuclear) em 1 L de água desionizada. As soluções padrão de arsênio, de concentrações variáveis foram obtidas por diluição adequada da solução estoque de arsênio. Estas diluições foram feitas empregando-se microbureta de vidro.
- **Solução de hidróxido de potássio (KOH) 0,05 mol L⁻¹:** Preparada a partir de 2,600g de hidróxido de potássio (Vetec) e completada a um volume de 1L.
- **Solução de borohidreto de sódio:** Preparada por dissolução de NaBH₄ (Vetec) em solução de KOH (Vetec) 0,05 mol L⁻¹ por diluição adequada para a obtenção da concentração desejada.
- **Solução de Ácido clorídrico:** Preparada a partir de HCl (Dinâmica) concentrado por diluição adequada para a obtenção da concentração desejada.
- **Solução de L-cisteína:** Preparada a partir de uma massa adequada da L-cisteína (Vetec), para cada uma das concentrações desejadas e diluída até a 1 L.
- **Solução de Interferentes (Mn, Pb, Fe, Cu, Ni, Zn, Al, Cd, Bi, Sn, Sb, Se e Te):** Preparadas a partir de soluções de 1000 mg L⁻¹ obtidas a partir da diluição de ampola (Carlo Erba) a 1L.

4.1.4 – Estudo das Variáveis no Sistema Análise por Injeção em Fluxo e Geração de Hidreto.

O método de otimização aqui utilizado é o método univariado, ou seja, fixam-se todos os fatores que estão sendo pesquisados em um certo nível, menos um deles. Este último é, então, variado até que se encontre a melhor resposta, passando, então, esta condição a ser fixada e novo fator sofre variação, até que todos os fatores estejam adequados para dar a melhor resposta.

Inicialmente, buscou-se otimizar as variáveis envolvidas no sistema A.I.F. e na técnica de geração de hidreto visando a determinação de arsênio (As III e As V), separadamente.

Os resultados foram avaliados considerando como os parâmetros estudados influenciaram a sensibilidade e a repetibilidade do sinal analítico.

As variáveis envolvidas no sistema A.I.F. de zonas coalescentes em confluência e na técnica de geração de hidreto são :

- volume de amostra e de reagente redutor (NaBH_4);
- comprimento da bobina de reação;
- vazão dos carregadores;
- concentração de ácido carregador da amostra;
- concentração de NaBH_4 ;
- vazão do gás de arraste;
- temperatura de atomização do hidreto de arsênio;
- estudo de interferentes e mascarantes.

4.1.5 – Redução de As (V) a As (III)

Como o As (V) praticamente não gera a arsina⁽⁸⁹⁾, é necessário a sua redução a As (III) para posterior geração da mesma. Em experimentos realizados observou-se que quando tentou-se determinar o As (V) sem a redução prévia utilizando-se apenas o NaBH_4 , verificou-se que em torno de 30% do arsênio foi encontrado, ou seja, apenas 30% reduziu a As (III). Portanto, a partir destes experimentos comprovou-se a necessidade de um agente redutor. Estes dados experimentais concordam com aqueles apresentados pela literatura⁽¹⁴⁾.

Inicialmente, estudou-se a variação da concentração de L-cisteína para diferentes concentrações de As (V): 0,1; 0,5 e 1,0 mg L^{-1} , para tal utilizou-se concentrações de L-cisteína que variaram de 0,01, 0,05 e 0,1 % m/v.

Para avaliar a eficiência da redução de As (V) a As (III) foram realizadas leituras de absorbância de soluções de : As (III), As (V), As (III) + As (V), As (V) + L-cisteína 0,01 %, As (III) + As (V) + L-cisteína 0,01 %. Esta redução foi realizada num forno de microondas (Provecto DGT-100), onde as soluções de As(V), de concentrações 0,01 e 0,1 mg L^{-1} , foram colocadas juntamente com a L-cisteína num período de 2 minutos a uma potência de 500W, para se verificar qual era o tempo e a potência necessária para a

redução, foi realizado um experimento onde estudou-se diferentes tempos e diferentes potências.

4.1.6– Estudo de interferentes

4.1.6.1 - Interferência em fase Líquida:

A configuração do sistema A.I.F. (Figura 5) empregada para reduzir o efeito de interferentes é proveniente de modificações do sistema A.I.F. da Figura 2. Para o estudo de interferentes da fase líquida uma mini-coluna contendo 50 mg de resina de troca catiônica foi acoplada, em linha, como mostra a Figura 5. Neste caso, o uso da resina de troca catiônica tem como função reter os cátions metálicos.

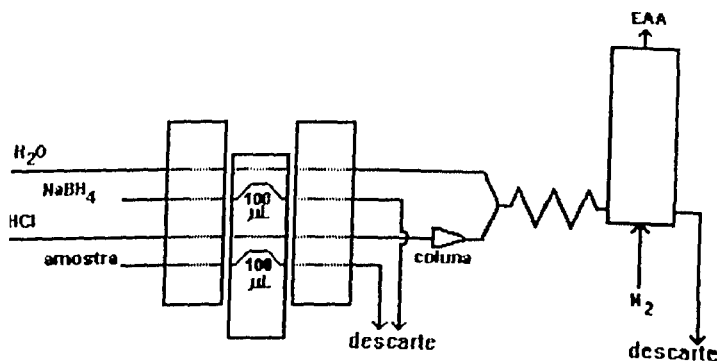


Figura 5 - Sistema A.I.F. de zonas coalescentes em confluência utilizado para reduzir o efeito de interferentes em fase líquida na determinação de arsênio (III e V).

A resina de troca catiônica, Amberlite 1R-120, foi adicionada num tubo de polietileno. Para reter a resina dentro da coluna foi colocada lã de vidro nas duas extremidades do tubo. A coluna recheada foi acoplada ao sistema de injeção em fluxo.

Foram estudados alguns metais (Cu(II), Fe(II), Mn(II), Zn(II), Cd(II), Ni(II), Pb(II), Al(III)) que podem causar interferência na determinação de As (III). Para isto, foram preparadas soluções de arsênio (III) na concentração de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$.

Para cada solução de arsênio foram adicionados quantidades conhecidas do interferente estudado nas seguintes proporções em relação à concentração de arsênio: 1:5, 1:10, 1:100, 1:500, 1:1000 e 1:5000. A solução de arsênio contendo o íon interferente a ser estudado foi introduzida no sistema A.I.F. , esquematizado na Figura 4.

4.1.6.2 - Interferência em fase Gasosa:

É devida a elementos que formam hidretos voláteis, como o arsênio. Geralmente, esses hidretos têm os mesmos comportamentos . Para o estudo destes interferentes utilizaram-se soluções de tiouréia 0,5% e 1,0% m/v em HCl 1,0 mol L⁻¹ , na linha do carregador da amostra.

Foram estudados alguns íons (Sn, Se, Bi, Sb e Te) que podem causar interferência gasosa na determinação de arsênio . Para isto, foram preparadas soluções de As (III) na concentração de 0,1 mg L⁻¹.

Para cada solução padrão de arsênio foram adicionados quantidades conhecidas do interferente estudado nas seguintes proporções em relação à concentração de arsênio: 1:5, 1:10, 1:100, 1:500, 1:1000 e 1:5000.

Pela diferença de absorvância da solução de arsênio contendo o íon interferente e da solução contendo somente arsênio mostrar-se-à a interferência devido à espécie interferente para o arsênio quando a razão entre as absorvâncias medidas for superior a 10 %⁽¹²⁰⁾.

4.1.7- Amostras

- Material de referência certificado: água de bebida (APS 1075):

Determinou-se As(III) e As(V) neste material de referência certificado. Para a leitura de As (III) foi feita a leitura direta, para verificar a presença de As (V) foi feita uma redução utilizando L-cisteína 0,01 %, para isto pipetou-se um volume de 5,0 mL de amostra e adicionou-se 0,01g L-cisteína, levando em seguida ao forno de microondas por um período de 2 minutos a uma potência de 500 W.

As soluções foram medidas, determinando-se a concentração de As(III) e As(V) em água de bebida. Os resultados foram comparados com o valor de referência fornecido no certificado.

- Amostras de Água

Para o estudo da aplicação do método em amostras em amostras de interesse ambiental, o procedimento foi usado em análises de amostras de água natural: amostras de uma estação de tratamento de água e água de chuva. A água proveniente da estação de tratamento foi coletada em três pontos diferentes do processo de tratamento(bruta, malha e tratada) e a água de chuva foi recolhida num recipiente previamente limpo no período de fevereiro de 2000.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 – Experimentos Preliminares

A temperatura de atomização para um determinado hidreto é uma característica particular de cada elemento. Assim, quando se utiliza a técnica de geração de hidretos para a determinação de uma certa espécie, um dos parâmetros a ser estudado é a temperatura de atomização.

Neste estudo, o atomizador utilizado é um tubo aberto, portanto, tornou-se necessário verificar a temperatura em diferentes pontos de seu interior. O fio de Ni-Cr foi enrolado sobre os 13 cm centrais do tubo de quartzo. Os 2 cm restantes em cada extremidade foram mantidos sem a resistência, visando uma diminuição de temperatura nestas áreas, pois quando se utiliza uma cela de atomização com extremidades abertas podem ocorrer sinais de absorção devido à ignição da mistura H_2 – ar nas extremidades da cela.

A Figura 6 mostra o perfil da temperatura obtido com o atomizador de quartzo. Como se observa nesta figura, a temperatura sofre um leve abaixamento no ponto central

do tubo ocasionado pela junção dos dois segmentos do atomizador que conduz a mistura do hidreto gasoso e N_2 . À medida que se distancia do ponto central ocorre o aumento de temperatura sendo que nas extremidades da cela a temperatura torna-se menor.

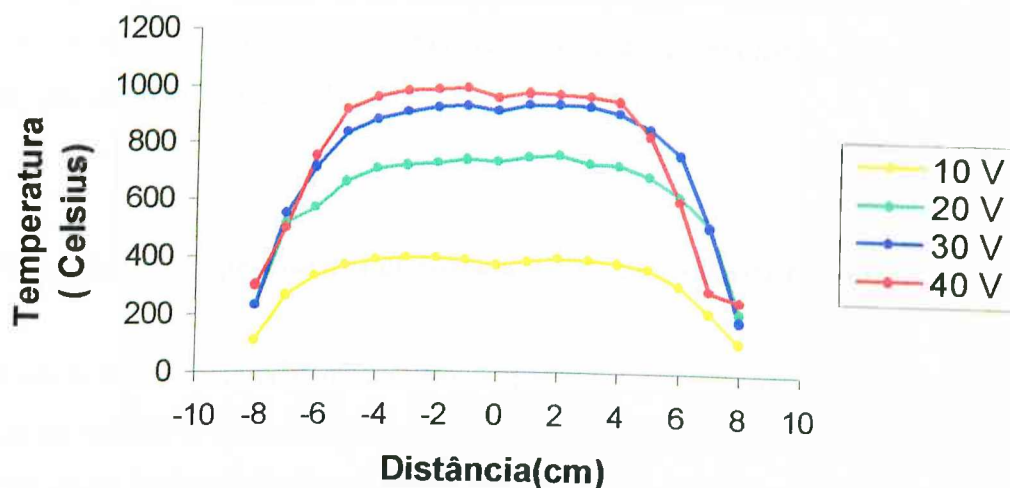


Figura 6: Perfil de temperatura obtido com o atomizador de quartzo. V é voltagem (Volts)

Neste trabalho, o reator-separador gás-líquido utilizado é um separador do tipo varredura (Figura 2) onde os orifícios de entrada da mistura (hidreto gasoso + fração líquida) e de saída da fração líquida estão na mesma altura, ocasionando assim a presença de um pequeno volume do resíduo líquido (volume de residência = 200 μ L) no interior do reator-separador.

A saída da fração líquida, aspirada pela bomba peristáltica evita a passagem da mesma ao atomizador. O gás N_2 é introduzido na parte inferior do separador através de uma placa de vidro sinterizado e transporta o hidreto formado para a câmara de atomização onde ocorre a decomposição do hidreto para formar seus átomos em fase gasosa. Quando ocorre a atomização, o sinal de absorção atômica obtido é proporcional ao número de átomos do vapor atômico. Desta maneira, a absorbância (altura de pico) obtida é proporcional à concentração de arsênio na amostra.

Os testes iniciais para a determinação de arsênio foram feitos com o sistema A.I.F em zonas coalescentes, similar ao usado por Coelho ⁽¹²¹⁾ para a determinação de selênio. Como os resultados obtidos mostraram-se promissores, tanto em termos de sensibilidade como de repetibilidade, este sistema foi adotado. Com base nestes resultados, foi feito um estudo visando a otimização das variáveis que afetam o sistema A.I.F e a técnica de geração de hidretos. Os estudos foram feitos para três diferentes concentrações de As (III) e As (V) : 0,1 ; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹. Para cada concentração de arsênio foram injetados volumes iguais de amostra e de reagente (NaBH₄) .

5.2 – Otimização dos parâmetros no sistema A.I.F e Geração de Hidreto

Para o desenvolvimento do método proposto foi considerado, inicialmente, como referência os trabalhos de Agterdenbos et al.⁽⁹³⁾. Neste trabalho, o hidreto de arsênio é gerado em meio ácido. Assim, no desenvolvimento deste método o ácido clorídrico foi utilizado como carregador da amostra. Segundo Agterdenbos et al.⁽⁹³⁾, as concentrações ótimas das soluções de NaBH₄ e de HCl são 1% (m/v) e 1,0 mol L⁻¹, respectivamente. Portanto, estes valores foram adotados para estas duas variáveis. Para as demais variáveis foram adotados os seguintes valores: a vazão de N₂ foi de 130 mL min⁻¹, as vazões dos carregadores da amostra (HCl) e do reagente borohidreto de sódio (água desionizada) foram de 3,6 mL min⁻¹; a temperatura de 900⁰ C foi utilizada para atomizar o hidreto de arsênio.

Inicialmente, estas condições experimentais foram estabelecidas e à medida que as variáveis foram sendo otimizadas no método proposto, os valores otimizados eram adotados.

5.2.1 - Efeito do volume injetado

O efeito do volume injetado (amostra e agente redutor) é mostrado na Figura 7. Observou-se que tanto para o As (III) como para o As (V), o sinal de absorvância aumentou com o aumento das concentrações de As (III) e de As (V) e com o aumento do volume de amostra e de agente redutor, sendo que o sinal foi maior para o volume de 250 µL. Não se

achou viável aumentar o volume de amostra e de redutor, pois o tempo necessário para o retorno do sinal à linha de base é maior e, conseqüentemente, a frequência de injeção é menor.

Observou-se que o sinal analítico para As (V) é menor que para o As (III), mantendo-se a mesma concentração. Isto é devido ao fato que o As (V) gera arsina em condições diferentes que o As (III), como mostra a literatura.

Neste caso, é necessário reduzir previamente o As (V) a As (III) para daí ocorrer a formação da arsina.

Analisando, matematicamente, as curvas obtidas para diferentes concentrações de As (III), observou-se que para $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ As (III) utilizando-se o volume de $150 \mu\text{L}$, a inclinação da curva nesta região, é ligeiramente menor que para as demais. Isto, provavelmente, se deve ao transporte irregular da arsina, desde que as condições experimentais estavam ainda sendo estabelecidas.

Foi estabelecido que o melhor volume, utilizando a bobina de 50 cm , é obtido para amostras e reagente com volume igual a $250 \mu\text{L}$.

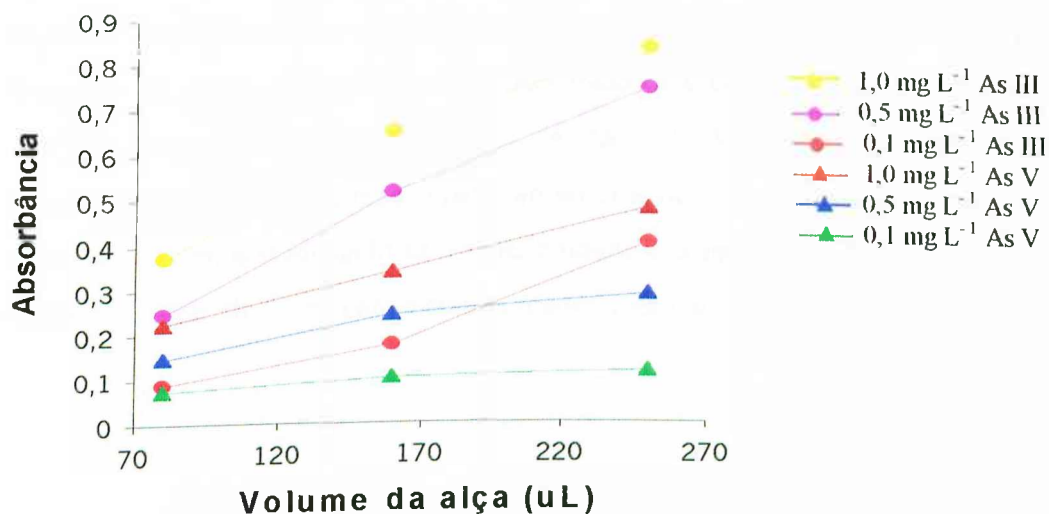


Figura 7: Efeito do volume injetado na determinação de As(III) e As(V).

Condições experimentais: Concentração de NaBH_4 : $1\% \text{ m/v}$; Concentração de HCl : $1,0 \text{ mol L}^{-1}$; bobina de reação: 50 cm ; vazão dos carregadores: $3,6 \text{ mL min}^{-1}$; vazão de nitrogênio: 130 mL min^{-1} e temperatura de atomização: 900°C .

5.2.2– Efeito da bobina de reação

Considerando que o hidreto de arsênio (arsina) é formado quando a amostra acidificada entra em contato com a solução de borohidreto de sódio, um dos parâmetros estudados foi o tempo necessário para esta reação.

O tempo de reação foi estudado em função do comprimento da bobina de reação. Reatores de diferentes comprimentos foram testados em função de diferentes concentrações para As (III) e As (V) mantendo-se constante a mesma quantidade de amostra e de reagente redutor (NaBH_4) introduzidos no sistema A.I.F. Para cada concentração de arsênio (III) e (V) : 0,1 ; 0,5 e 1,0 mg L^{-1} , foram testadas três bobinas de reação de 10 , 30 e 50 cm de comprimento.

A absorbância é maior para a bobina de 50 cm tanto para o As (III) como para o As (V), diminuindo quando o tempo de reação diminuiu, devido ao pequeno percurso analítico, onde seu tamanho não foi suficiente para que toda a amostra reagisse com o borohidreto de sódio . Observou-se que para bobinas de reação menores de 30 cm, não há diferenças significativas no sinal analítico para o As (V), isto significa que para bobinas menores que 30 cm, o percurso analítico não é suficiente para a redução do As (V) a As (III) e posterior, formação da arsina. Somente com bobinas maiores é possível fazer a distinção do sinal analítico para diferentes concentrações de As (V). A Figura 8 mostra o efeito do comprimento da bobina de reação para um volume de 250 μL de arsênio e de borohidreto de sódio. Assim, considerando-se a repetibilidade e o melhor sinal analítico , foi usada a bobina de reação de 50 cm para a continuidade deste trabalho.

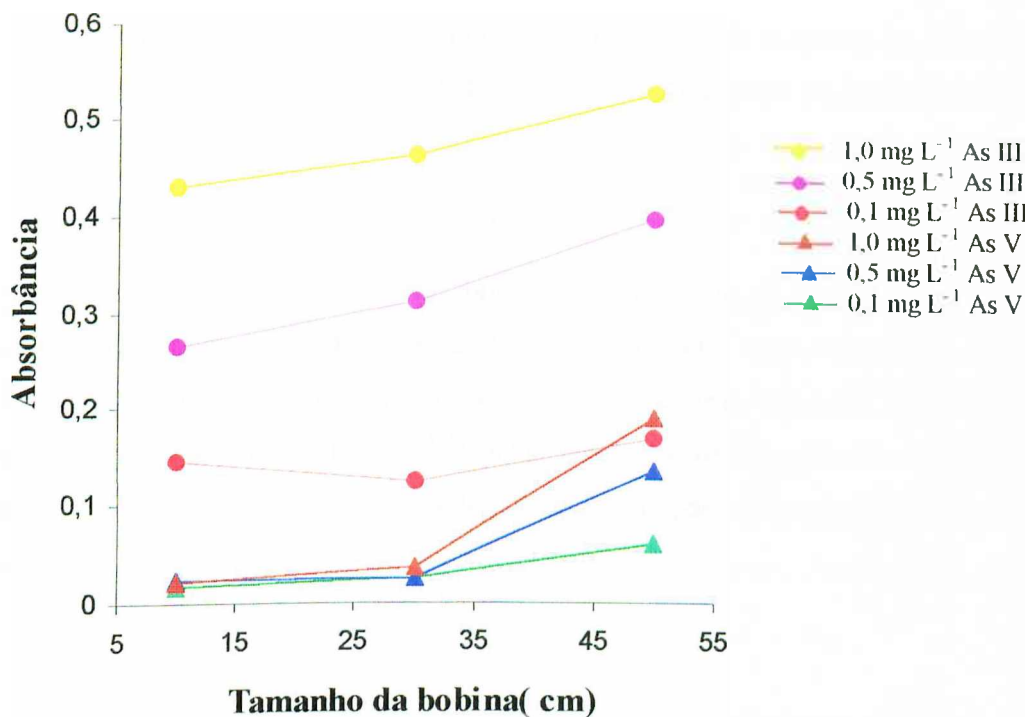


Figura 8: Efeito do comprimento da bobina de reação na determinação de As(III) e As(V).

Condições experimentais: Concentração de NaBH_4 : 1% (m/v); Concentração de HCl : $1,0 \text{ mol L}^{-1}$; volume injetado: $250 \mu\text{L}$; vazão dos carregadores: $3,6 \text{ mL min}^{-1}$; vazão de nitrogênio: 130 mL min^{-1} e temperatura de atomização: 900°C .

5.2.3 - Efeito da temperatura de atomização

Desde que cada elemento tem uma temperatura adequada para a atomização, estudou-se a melhor temperatura para a atomização da arsina, as temperaturas estudadas foram: 600 , 700 , 800 , 900 e 1000°C . Como a arsina é gerada a partir do As (III) não foi necessário realizar este experimento para o As (V).

A Figura 9 mostra que acima de 600°C ocorre a atomização do hidreto de arsênio e que sua eficiência aumentou com o aumento de temperatura até 900°C . O hidreto gerado é transportado ao atomizador juntamente com o excesso de radicais hidrogênio e o gás de

arraste. Os radicais de hidrogênio são gerados na reação com o NaBH_4 em meio ácido. Desde que a atomização do hidreto no tubo de quartzo aquecido é devido às colisões com os radicais hidrogênio e que a probabilidade de formação de átomos da espécie analítica de interesse a partir do hidreto gerado é proporcional ao número de colisões com radicais livres, este fato aumenta a eficiência de atomização. Abaixo de 600°C não ocorreu atomização do hidreto em quantidades significativas e acima de 900°C a absorbância diminuiu, provavelmente devido à instabilidade do hidreto. Um decréscimo no sinal analítico pode ser explicado pela menor eficiência de colisão e menor estabilidade do hidreto, pois de acordo com Welz et al.⁽¹²⁰⁾ os hidretos se decompõem às altas temperaturas. Assim, a temperatura de 900°C foi considerada adequada para a atomização do hidreto de arsênio.

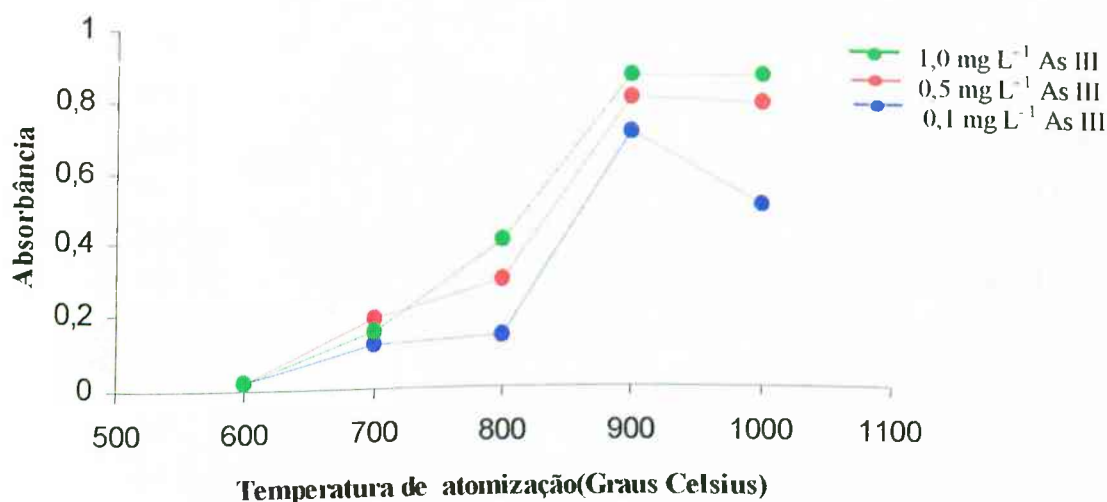


Figura 9: Efeito da temperatura de atomização na determinação de arsênio (III).

Condições experimentais: concentração de NaBH_4 : 1,0 % (m/v); concentração de HCl : 1,0 mol L⁻¹; volume injetado: 250 μL ; bobina de reação: 50 cm; vazão dos carregadores: 3,6 mL min⁻¹ e vazão de nitrogênio: 130 mL min⁻¹.

5.2.4 - Efeito da vazão dos carregadores

O efeito da vazão dos carregadores, ou seja, água desionizada e ácido clorídrico foi avaliado para as vazões de 3,0 ; 3,6 e 5,0 mL min⁻¹.

Na Figura 10 estão os resultados obtidos tanto para o As (III) quanto para o As (V). Observou-se que a absorbância aumentou com o aumento da concentração, para ambas as formas de arsênio e à medida que foi aumentada a vazão, ou seja, quando o carregador é mais rápido, o tempo de residência da amostra é menor, com isso a dispersão é menor, ocasionando um sinal analítico maior. Porém, com o aumento da vazão de 3,6 para 5,0 mL min⁻¹, o aumento no sinal não foi significativo.

Assim, considerou-se que a vazão de 3,6 mL min⁻¹ fornecia sinal analítico adequado aos objetivos propostos tanto para As (III) como para As (V), e o consumo de reagente seria menor que na vazão de 5,0 mL min⁻¹.

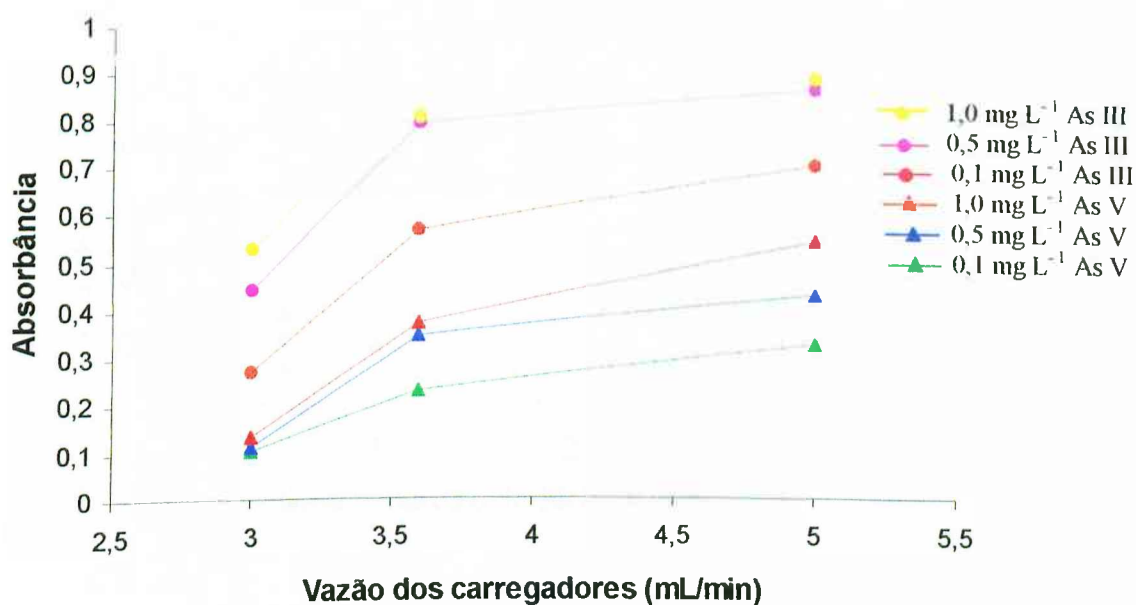


Figura 10: Efeito da vazão dos carregadores na determinação de arsênio (III e V).

Condições experimentais: volume injetado: 250 µL ; concentração de NaBH₄: 1% (m/v); concentração de HCl: 1,0 mol L⁻¹; bobina de reação: 50 cm; vazão de nitrogênio: 130 mL min⁻¹ e temperatura de atomização: 900^o C.

5.2.5 – Efeito da concentração de NaBH_4

O efeito de diferentes concentrações de borohidreto de sódio na sensibilidade do método analítico foi verificado injetando-se um volume constante de diferentes concentrações do redutor: 0,10; 0,50; 1,0 e 3,0% (m/v).

De acordo com a Figura 11, a absorbância para As (III) aumentou até 1,0 % m/v de NaBH_4 e depois diminuiu. Este comportamento foi verificado quando quantidades crescentes de arsênio foram introduzidas no sistema. Isto mostrou que a introdução de 250 μL de uma solução 1,0% m/v de NaBH_4 foi suficiente para formação da arsina. Quando maiores concentrações de NaBH_4 eram utilizadas, observou-se que, ocorria a formação de uma quantidade muito grande de hidrogênio. Este excesso de H_2 gerado provocava uma menor reprodutibilidade dos sinais obtidos, assim como a diluição do hidreto de arsênio formado a partir do As(III).

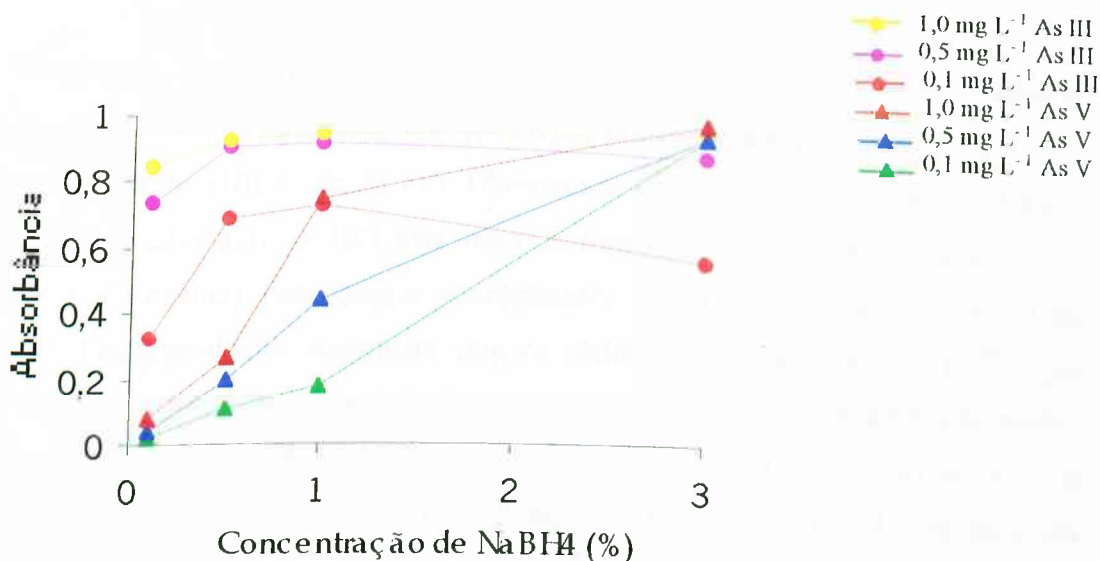


Figura 11 : Efeito da concentração de NaBH_4 na determinação de As (III) e As (V).

Condições experimentais: concentração de HCl : 1,0 mol L⁻¹; volume injetado: 250 μL ; bobina de reação: 50 cm; vazão dos carregadores: 3,6 mL min⁻¹; vazão de nitrogênio: 130 mL min⁻¹ e temperatura de atomização: 900^o C.

A Figura 11 mostra que a absorvância para As (V) aumenta à medida que aumenta a concentração de NaBH_4 , mesmo para concentrações maiores que 1,0 %. Este comportamento é diferenciado do As (III), pois para o As (V) é necessária a redução prévia e a partir daí a formação da arsina. Assim é necessária uma maior concentração do redutor. Tal comportamento diferenciado pode ser observado quando se utilizou NaBH_4 0,1% m/v, observou-se a formação significativa da arsina a partir do As (III) enquanto para o As (V) praticamente não ocorreu a geração da arsina.

Desta maneira, considerou-se conveniente a utilização de uma solução de 1,0 % m/v de borohidreto de sódio para a continuidade do trabalho.

5.2.6– Efeito da concentração de HCl

O efeito da concentração de ácido clorídrico na geração da arsina foi testada para as concentrações de HCl na faixa de 0,50 a 3,0 mol L^{-1} , utilizando soluções contendo 0,1 ; 0,5 e 1,0 mg L^{-1} de As (III) e de As (V). Observou-se um aumento de absorvância até a concentração de 2,0 mol L^{-1} de HCl, para ambas as formas de arsênio, permanecendo quase constante a absorvância para maiores concentrações de HCl, conforme é mostrado na Figura 12. Estes resultados concordam com os obtidos por Agterdenbos et al.⁽¹⁰¹⁾ que apesar do hidreto necessitar de meio ácido para ser formado, não é necessário uma acidez alta. Como não houve grandes diferenças no sinal de absorvância para o uso de HCl 1,0 mol L^{-1} e 2,0 mol L^{-1} , foi adotada a concentração de HCl de 1,0 mol L^{-1} na linha do carregador.

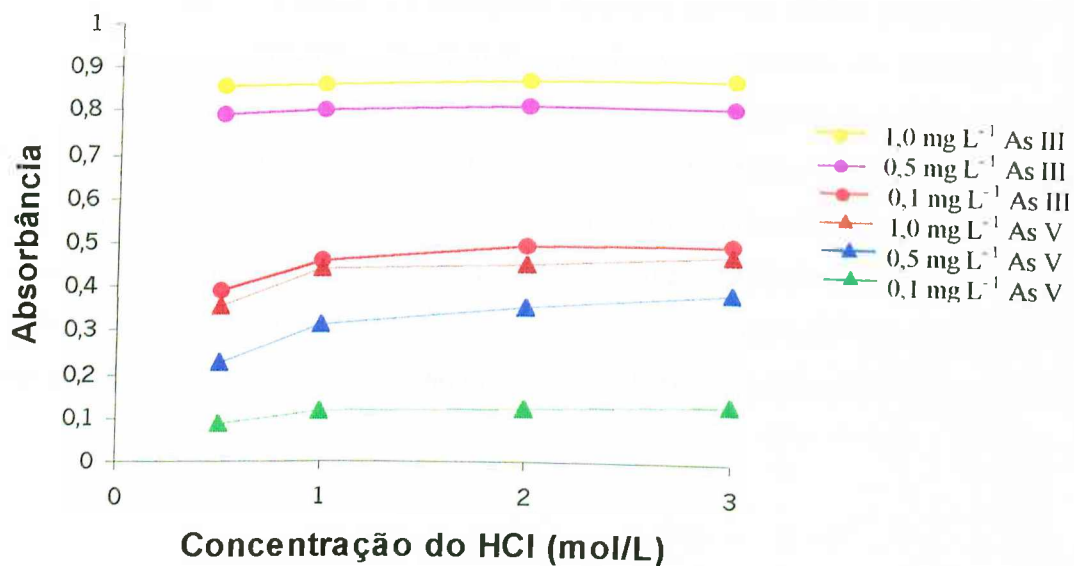


Figura 12: Efeito da concentração de HCl na determinação de arsênio (III e V).

Condições experimentais: concentração de NaBH_4 : 1,0% (m/V); volume injetado: 250 μL ; bobina de reação: 50 cm; vazão dos carregadores: 3,6 mL min^{-1} ; vazão de nitrogênio: 130 mL min^{-1} e temperatura de atomização: 900^o C.

5.2.7 – Efeito da vazão do gás de arraste

O efeito da vazão de nitrogênio foi estudado nos valores de 40 ; 130 e 330 mL min^{-1} (Figura 13) utilizando soluções de 0,1 ; 0,5 e 1,0 mg L^{-1} de arsênio (III e V).

Observou-se, experimentalmente, que para a vazão de 40 mL min^{-1} foram encontrados os maiores valores de absorbância para o As (III) e que para vazões acima desta os valores de absorbância diminuíram. Verificou-se que a vazão de 40 mL min^{-1} embora não sendo suficiente para diluir a quantidade de hidrogênio formado a partir do

borohidreto, ocasionou um aumento do desvio padrão. Isto mostra que a separação das fases gasosa e líquida era irregular e o transporte da arsina não era efetivo para vazão de 40 mL min⁻¹. Nestas condições, observou-se que houve a queima de hidrogênio no atomizador. Para fluxos maiores do que 40 mL min⁻¹ a sensibilidade é diminuída por causa do efeito de diluição da arsina no gás de arraste. Desta forma, achou-se mais coerente usar uma vazão de 130 mL min⁻¹ onde o efeito de diluição do hidreto de arsênio no gás de arraste não é muito acentuado, sendo satisfatório o sinal analítico. Assim, mantendo o compromisso com a reprodutibilidade do sinal, a vazão de 130 mL min⁻¹ foi considerada a mais adequada tanto para a determinação de arsênio (III) como para arsênio (V).

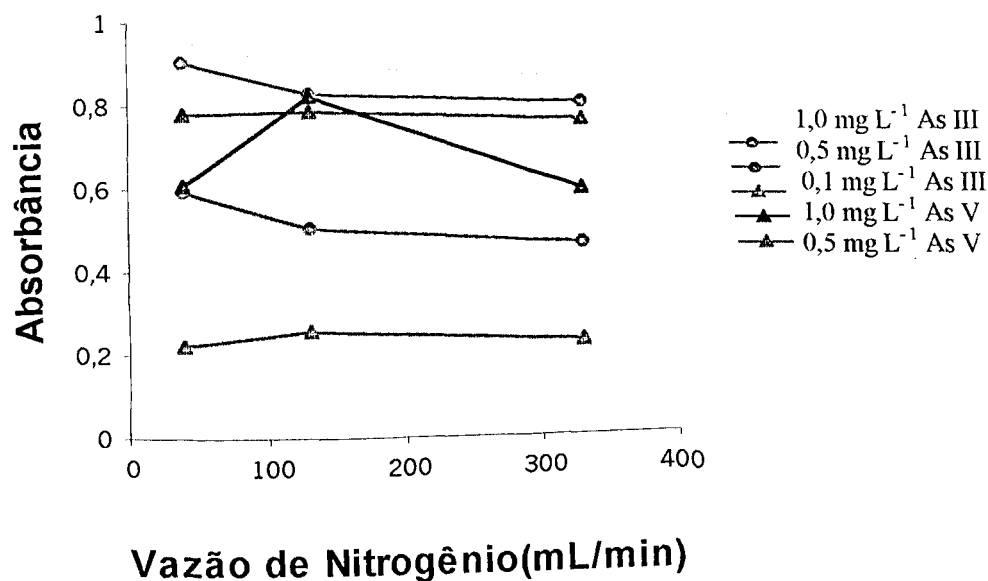


Figura 13: Efeito da vazão de nitrogênio na determinação de arsênio (III e V).

Condições experimentais: concentração de NaBH₄: 1,0% (m/v); concentração de HCl: 1,0 mol L⁻¹; volume injetado: 250 µL; bobina de reação: 50 cm; vazão dos carregadores: 3,6 mL min⁻¹ e temperatura de atomização: 900^o C.

5.3 - Estudo da Redução de As (V) a As (III) Utilizando como Agente Redutor a L-cisteína

O estudo para a redução do As (V) foi feito comparando o sinal analítico da arsina gerada a partir do As (V) e da arsina gerada a partir do As (III), nas mesmas concentrações tanto para As (III) quanto para As (V). A literatura mostra que vários agentes redutores podem ser utilizados para esta proposta. Um dos redutores bastante utilizado é a L-cisteína. Desde que a proposta do trabalho em questão não é propor outros agentes redutores para reduzir As (V), e, sim propor uma metodologia analítica que possibilite a determinação de As (III) a As (V), separadamente, então foi adotado o uso da L-cisteína para a redução do As (V) a As (III).

O procedimento para a redução do arsênio foi efetuado, “ off line ”, ou seja, a redução não foi feita juntamente ao sistema A.I.F. para determinação de arsênio, devido a complexidade do sistema em fluxo que poderia ocasionar.

De acordo com o procedimento (item 4.1.5) a redução foi feita num forno de microondas comercial, normalmente utilizado para tratamento de amostras.

5.3.1 – Variação da concentração de L-cisteína

A partir dos resultados do estudo da variação da concentração de L-cisteína (0,01 ; 0,05 e 0,1 %) para diferentes concentrações de As(V), obteve-se o gráfico que está representado pela Figura 14 a seguir.

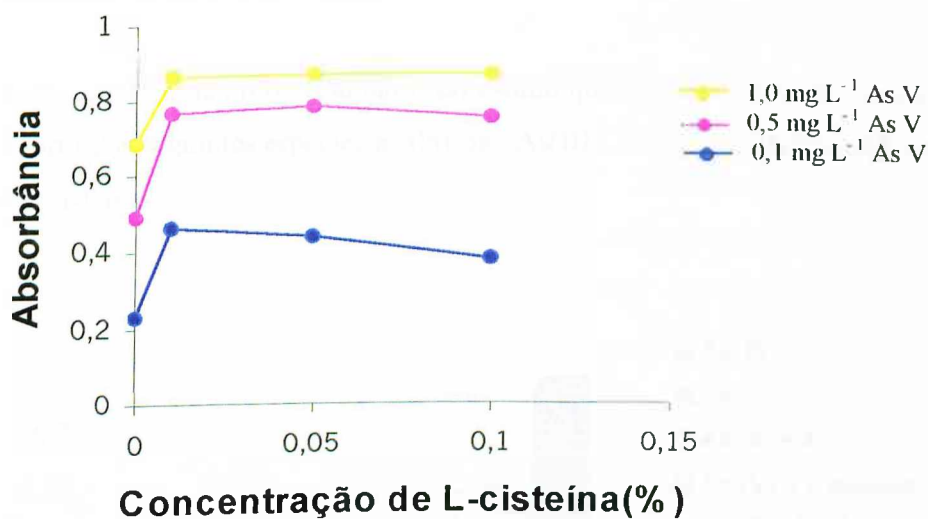


Figura 14: Efeito da variação da concentração de L-cisteína na redução do As (V).

Condições experimentais: concentração de NaBH₄: 1,0 %(m/v); concentração de HCl: 1,0 mol L⁻¹; volume injetado: 250 µL; bobina de reação: 50 cm; vazão dos carregadores: 3,6 mL min⁻¹, vazão de nitrogênio: 130 mL min⁻¹ e temperatura de atomização: 900^o C.

Partindo-se do estudo da redução do As(V) a As(III), pode-se verificar que não é necessário a utilização de altas concentrações de L-cisteína, ou seja, 0,01% de L-cisteína é suficiente para a redução de As (V) à As (III).

Como é mostrado na Figura 14, o sinal de absorbância obtido, na ausência de L-cisteína, é devido simplesmente à solução de As (V) injetada diretamente no sistema de fluxo.

5.3.2 – Redução de As (V) a As (III)

A Figura 15 contém os resultados do estudo quando comparou-se o sinal analítico obtido a partir das seguintes espécies analíticas : As(III), As(V), As(III) + As(V) e As(III) + As(V) + L-cisteína.

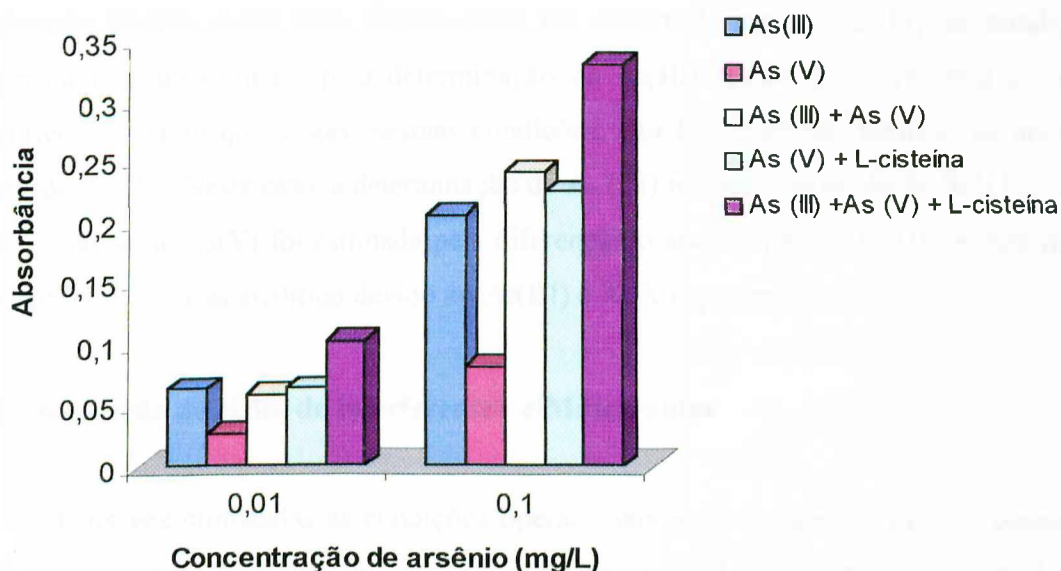


Figura 15 - Sinal analítico (absorbância) obtido para As (III) e As (V) na presença e na ausência de L-cisteína 0,01%.

Condições experimentais: concentração de NaBH_4 : 1,0 % (m/v); concentração de HCl : $1,0 \text{ mol L}^{-1}$; volume injetado: $250 \mu\text{L}$; bobina de reação: 50 cm; vazão dos carregadores: $3,6 \text{ mL min}^{-1}$, vazão de nitrogênio: 130 mL min^{-1} e temperatura de atomização: 900°C .

Pode-se observar através da Figura 15 que o sinal analítico para o As (V) é cerca de 40% do sinal do As (III). Quando se utilizou a L-cisteína para reduzir o As (V) a As (III) verificou-se que sua utilização é bastante satisfatória, uma vez que comparando-se o sinal

analítico do As (V) após a redução com o do As (III) a diferença entre eles é menor que 9%.

Ainda pode-se observar que ao se fazer a leitura do As (III) e As (V) em conjunto houve um decréscimo no sinal em cerca de 40%. A absorbância do As (III) e As (V) após a redução, o decréscimo encontrado foi cerca de 20%. Isto pode ser devido a alguma interação que pode estar ocorrendo entre o As (III) e As (V) quando lidos em conjunto.

A determinação de As(III), livre do efeito do sinal analítico para o As(V), foi feita utilizando NaBH_4 0,1% m/v. Como pode ser observado na Figura 11, as condições experimentais possibilitam para determinação de As(III) apesar do decréscimo do sinal analítico, enquanto que nestas mesmas condições, não foi observado geração da arsina a partir do As (V). Neste caso, a determinação de As (III) foi feita utilizando NaBH_4 0,1% e a determinação de As(V) foi estimada pela diferença do arsênio total e As(III), sendo que o arsênio total é o sinal analítico devido ao As(III) e As(V) após redução.

5.4 – Avaliação do efeito de Interferentes e Mascarantes

Uma vez otimizadas as condições operacionais para o método proposto, passou-se então para a etapa seguinte, ou seja, o estudo do efeito de diversos íons que poderiam interferir na determinação de arsênio para o método desenvolvido.

Foram testados vários íons que poderiam causar interferência tanto na fase líquida quanto na fase gasosa. Para tal, foram preparadas soluções padrão de arsênio (III) na concentração de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$. Para cada solução padrão de arsênio foram adicionadas quantidades conhecidas do interferente a ser estudado nas seguintes proporções em relação à concentração de arsênio: 1:10 ; 1:100 ; 1:500 ; 1:100 e 1:5000.

Uma determinada espécie foi considerada como interferente para o arsênio quando a diferença entre as absorvâncias medidas foi superior a 10% ⁽¹²⁰⁾.

Assim, o fator de interferência, FI, é definido por:

$$FI = A'/A$$

onde A' é o valor da absorvância relativa à solução de arsênio na presença do interferente e A é a absorvância da solução de arsênio sem o interferente.

Quando $FI = 1,00$ significa que não há interferência, enquanto fatores maiores que 1,10 ou menores que 0,90 indicam um aumento ou um decréscimo do sinal analítico devido ao interferente, isto é interferência de 10%.

5.4.1 – Interferência em fase Líquida

A Tabela 2 mostra o fator de interferência dos diversos íons da fase líquida para a determinação de arsênio com geração de hidreto utilizando soluções de As (III) $0,1 \text{ mg L}^{-1}$.

De acordo com os resultados, os íons Mn(II) , Cd(II) e Zn(II) não apresentam interferência para o método proposto.

O estudo de interferentes na fase líquida mostrou que os íons Al(III) , Fe(III) , Pb(II) , Ni(II) e Cu(II) provocaram uma alteração maior do que 10% no sinal da absorvância, sendo que a interferência mais crítica foi devido Al(III) e Ni(II) .

A interferência para o íon Al(III) é considerada relevante quando este íon está presente numa amostra na razão a partir de 1:100 em relação ao arsênio. No Ni(II) ocorreu a interferência a partir de 1:500 em relação ao arsênio.

Os íons Fe(III) , Cu(II) e Pb(II) interferem somente na razão de 1:5000 em relação ao arsênio.

Tabela 2: Fator de interferência dos íons da fase líquida na determinação de arsênio (III) ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$).

Razão Arsênio : Interferente						
Interferente	1:5	1:10	1:100	1:500	1:1000	1:5000
Mn(II)	1,04	1,01	1,01	1,00	1,07	1,00
Pb(II)	1,00	1,00	1,02	0,98	0,95	0,79
Fe(III)	1,04	0,97	0,97	1,00	0,90	0,85
Cu(II)	1,05	1,07	1,06	1,05	1,05	1,16
Ni(II)	0,96	0,97	0,92	0,85	0,74	0,16
Zn(II)	1,03	1,02	1,02	1,02	1,03	1,03
Al(III)	1,09	1,10	1,14	1,21	1,25	1,32
Cd(II)	1,02	1,07	1,00	1,02	1,01	0,94

Após a identificação dos íons interferentes da fase líquida realizou-se um estudo para eliminar ou, pelo menos, minimizar seus efeitos.

Utilizou-se uma mini-coluna contendo 50 mg de resina de troca iônica (Amberlite IR-120) em linha (Figura 5).

A resina Amberlite IR-120 é uma resina de troca catiônica, portanto, sendo capaz de reter os cátions metálicos (M^{n+}) deixando passar o arsênio que está na forma de ânion (AsO_3^{3-}). Embora, as resinas de troca iônica sejam mais usadas para reduzir o efeito de interferência de elementos da fase líquida o seu uso não exclui a possibilidade de também reduzir o efeito de interferência de elementos da fase gasosa, desde que estes elementos estejam presentes numa amostra como cátions metálicos. A passagem da solução contendo os íons interferentes pela coluna de troca catiônica provoca uma saturação da resina, provavelmente diminuindo a eficiência de troca. Foi observado que a passagem da solução carregadora ($HCl 1,0 \text{ mol L}^{-1}$) pela coluna foi suficiente para o condicionamento da coluna.

Tabela 3: Fator de interferência dos íons da fase líquida utilizando coluna de resina de troca catiônica. Solução padrão de arsênio(III) 0,1mg L⁻¹.

Razão Arsênio : Interferente				
Interferente	1:100	1:500	1:1000	1:5000
Pb(II)	-	-	-	0,92
Fe(II)	-	-	-	1,02
Cu(II)	-	-	-	1,00
Ni(II)	-	1,05	1,02	0,45
Al(III)	1,07	1,08	1,10	1,10

A partir dos dados da Tabela 3, pode concluir que a resina Amberlite IR-120 mostrou-se eficiente para eliminar a maioria dos íons interferentes da fase líquida, exceto o íons Ni(II) na razão de 1:5000, onde o fator de interferência (FI) passou de 0,16 para 0,45, ou seja, o efeito de interferência foi minimizado. Este fato não é crítico para a determinação de arsênio numa amostra real, pois a concentração estudada de níquel como interferente no método desenvolvido é bem maior que a concentração encontrada numa amostra real. De acordo com os resultados obtidos, o uso da resina mostrou-se eficiente para minimizar o efeito dos íons interferentes da fase líquida para o método proposto.

5.4.2 - Interferência em fase gasosa

A interferência causada por elementos que formam hidretos é mais crítica do que aquela causada por elementos que são reduzidos preferencialmente pelo borohidreto de sódio (fase líquida), pois, todos os elementos que formam hidretos interferem na determinação de arsênio mesmo em quantidades pequenas.

A Tabela 4 mostra o fator de interferência dos íons da fase gasosa para a determinação de As (III) com geração de hidreto utilizando soluções de As (III) $0,1 \text{ mg L}^{-1}$.

De acordo com os resultados, verificou-se que todos os íons apresentaram interferência, ou seja, provocaram uma alteração maior do que 10% no sinal analítico, sendo que a interferência mais crítica foi devido ao íon Se(IV), a partir da razão de 1:5 em relação ao arsênio.

A interferência para os íons Sb(III), Te(IV) e Bi(III) são consideradas relevantes quando estes íons estão presentes numa amostra a partir da razão de 1:100, e o íon Sn(II) a partir da razão de 1:10 em relação ao arsênio.

Durante o estudo, observou-se a formação de um precipitado preto após o ponto de confluência, isto é, quando a solução da amostra entra em contato com NaBH_4 . Isto foi observado para os elementos Sb(III), Te(IV), Bi(III) e Sn(II) (precipitado castanho para o Se(IV)). O precipitado é formado devido a decomposição do hidreto, liberando o metal que é reduzido para o estado fundamental, ocasionando a perda de sinal. Neste caso, o sistema A.I.F. deve ser limpo com a solução carregadora de $\text{HCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

De acordo com o mecanismo de atomização de hidretos, os radicais hidrogênio, produzidos no processo de redução com NaBH_4 em meio ácido, são responsáveis pela atomização do hidreto. Outros elementos que formam hidretos reduzem a população dos radicais hidrogênio consumindo-os nos seus processos de atomização, portanto diminuindo a eficiência de atomização da espécie de interesse.

Tabela 4: Fator de interferência dos íons da fase gasosa na determinação de arsênio (III) ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$).

Razão Arsênio : Interferente						
Interferente	1:5	1:10	1:100	1:500	1:1000	1:5000
Sb(III)	1,04	0,96	0,23	*	*	*
Sn(II)	0,93	0,67	0,42	0,38	0,30	*
Se(IV)	0,18	0,16	0,15	0,06	*	*
Te(IV)	0,99	0,90	0,78	0,52	*	*
Bi(III)	1,07	1,08	0,40	0,47	*	*

* formação de precipitado

Com a finalidade de eliminar ou, pelo menos, minimizar o efeito de interferência em fase gasosa foi feita uma tentativa de utilizar como agente mascarante a tiouréia. Utilizou-se a tiouréia 0,5% (m/v) e 1,0% (m/v) em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e os resultados são mostrados nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5: Fator de interferência dos íons da fase gasosa utilizando Tiouréia (0,5 % m/v) como mascarante. Solução padrão de arsênio (III) $0,1 \text{ mg L}^{-1}$.

Razão Arsênio : Interferente						
Interferente	1:5	1:10	1:100	1:500	1:1000	1:5000
Sb(III)	-	-	0,30	-	*	*
Sn(II)	-	0,99	0,66	0,58	0,50	*
Se(IV)	0,61	0,55	0,41	0,32	*	*
Te(IV)	-	-	0,81	0,64	*	*
Bi(III)	-	-	0,99	0,80	*	*

* formação de precipitado

Tabela 6: Fator de interferência dos íons da fase gasosa utilizando Tiouréia (1,0 % m/v) como mascarante. Solução padrão de arsênio III $0,1 \text{ mg L}^{-1}$.

Razão Arsênio : Interferente						
Interferente	1:5	1:10	1:100	1:500	1:1000	1:5000
Sb(III)	-	-	-	0,12	*	*
Sn(II)	-	-	0,67	0,36	*	*
Se(IV)	0,55	0,53	0,38	0,30	*	*
Te(IV)	-	-	0,65	0,37	*	*
Bi(III)	-	-	-	0,26	*	*

***formação de precipitado**

De acordo com os resultados obtidos a respeito da tiouréia para reduzir o efeito dos íons interferentes, conclui-se que a tiouréia 0,5% m/v em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ mostrou-se suficiente para minimizar a interferência de todos os íons da fase gasosa e a solução de tiouréia 1,0% m/v, mostrou-se insuficiente para reduzir mais significativamente a interferência. Foi observado que o sinal analítico é diminuído à medida que a concentração de tiouréia é aumentada de 0,5 para 1,0 %, mostrando que o arsênio também é reduzido pela tiouréia 1,0%.

Convém ressaltar, que o fato de não ter se conseguido eliminar a interferência, não é problemático para a determinação de arsênio numa amostra real, pois a concentração estudada dos elementos interferentes no método desenvolvido é bem maior que a concentração encontrada na prática. Neste contexto, a potencialidade do método proposto pode ser aplicada à determinação de arsênio para diferentes amostras.

Não é nossa pretensão propor um procedimento que elimine a interferência de elementos na técnica de geração de hidretos, e sim minimizar o efeito de interferência de elementos na determinação de arsênio por geração de hidretos. Portanto, apesar de não ter

sido contornado o efeito de interferência de todos os elementos que geram hidretos para o método desenvolvido, o uso da tiouréia constituiu-se numa alternativa satisfatória para minimizar interferência gasosas na técnica de geração de hidretos.

5.5- Curvas de Calibração, precisão, exatidão e limite de detecção

5.5.1- Curvas de Calibração, precisão e limite de detecção

A curva de calibração para o As(III) obtida está representada na Figura 16. Os dados mostram que os pontos experimentais descreveram uma reta, representada pela seguinte equação: $Y = 0,0263 + 6,1092 X$, onde Y é o sinal analítico (medido em absorbância) e X é a concentração de arsênio (em mg L^{-1}). O coeficiente de correlação linear variando a concentração de arsênio 0,01 a 0,1 mg L^{-1} é de 0,9929. A precisão do método foi avaliada através do desvio padrão relativo, calculado a partir de 10 determinações em replicata, foi de 2,3% para 0,1 mg L^{-1} de As (III). O limite de detecção, considerando-se a relação sinal/ruído igual a três, segundo as recomendações da IUPAC, obtido para o As (III) foi de 0,35 $\mu\text{g L}^{-1}$.

A curva de calibração para o As (V) obtida está representada na Figura 17. Os resultados obtidos mostram que na faixa 0,01 a 0,1 mg L^{-1} a resposta é linear, representada pela seguinte equação: $Y = 0,0020 + 4,1030 X$, onde Y é o sinal analítico (medido em absorbância) e X é a concentração de arsênio (em mg L^{-1}). O coeficiente de correlação linear variando a concentração de arsênio é de 0,9822. A precisão do método foi avaliada através do desvio padrão relativo, calculado a partir de 10 determinações em replicata, foi de 1,7% para 0,1 mg L^{-1} de As (V). O limite de detecção obtido, segundo a IUPAC, para o As(V) foi de 0,52 $\mu\text{g L}^{-1}$.

A frequência analítica para As(III) e para As(V) é a mesma, ou seja, de 120 amostras por hora.

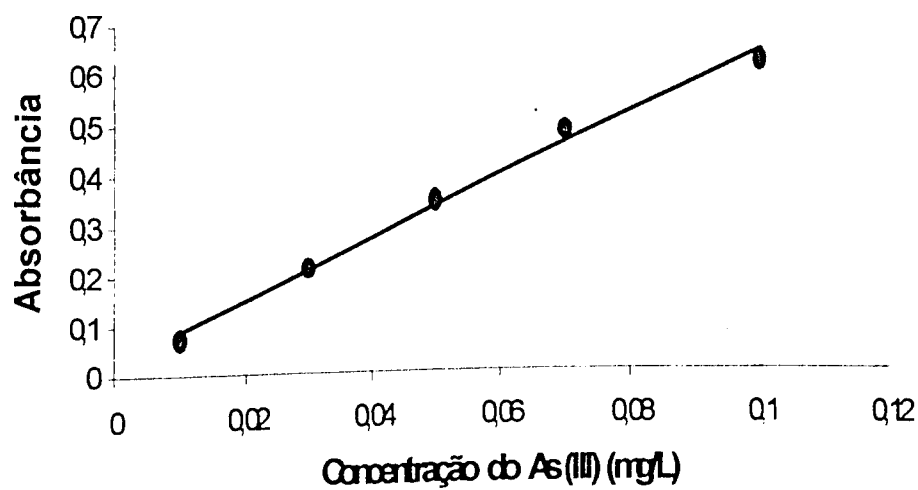


Figura 16 – Curva de Calibração para determinação de As(III)

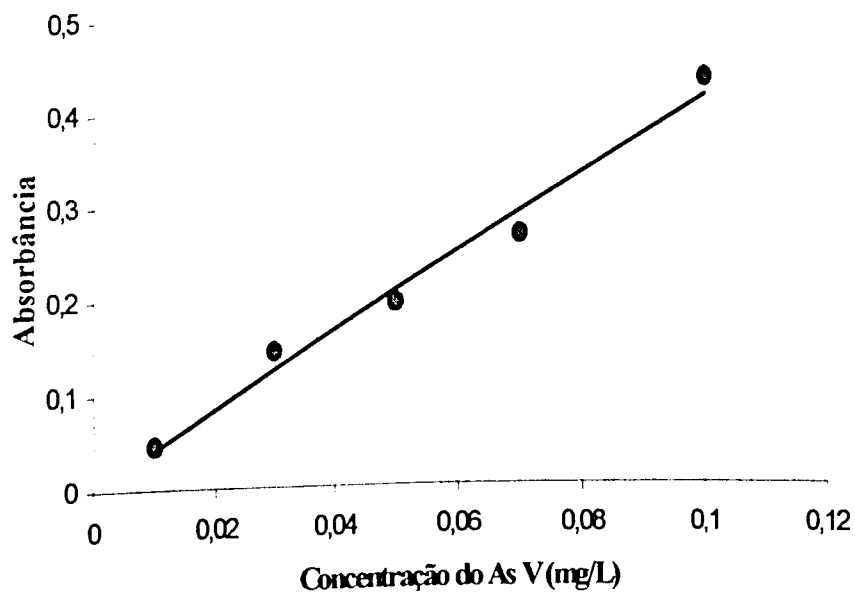


Figura 17 – Curva de Calibração para determinação de As(V)

5.5.2- Exatidão do Método

5.5.2.1- Determinação de Arsênio (III e V) em Água de Bebida

A exatidão do método proposto foi avaliada com padrão certificado de água com respeito ao conteúdo de arsênio. A Tabela 7 mostra os elementos constituintes presentes no padrão certificado (APS 1075).

Tabela 7: Valores certificados dos elementos constituintes em amostras de águas de bebida (APS 1075)

Elemento	$\mu\text{g L}^{-1} \pm 0,5\%$	Elemento	$\mu\text{g L}^{-1} \pm 0,5\%$
Alumínio	120	Manganês	40
Antimônio	10	Molibdênio	100
Arsênio	80	Níquel	60
Bário	50	Potássio	2500
Berílio	20	Rubídio	10
Bismuto	10	Selênio	10
Cádmio	10	Prata	2
Cálcio	35000	Sódio	6000
Crômio	20	Estrôncio	250
Cobalto	25	Telúrio	3
Cobre	20	Tálio	10
Ferro	100	Vanádio	30
Chumbo	40	Urânio	10
Lítio	20	Zinco	70
Magnésio	9000		

A amostra foi tratada de acordo com o procedimento do item 4.1.7 (Parte Experimental). A solução resultante foi injetada no sistema F.I.A. em 10 replicatas. O resultado obtido está descrito na Tabela 8, onde é comparada com o valor certificado.

Tabela 8: Determinação de Arsênio (III e V) $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostra certificada de água de bebida.

Amostra	Valor Certificado	Valor encontrado As(III)	Valor encontrado As(V)
APS 1075	$80,00 \pm 0,5$	$81,71 \pm 1,68$	$< \text{L.D}^*$

* Limite de Detecção para As (V) = $0,52 \mu\text{g L}^{-1}$

Estes dados mostram que o resultados obtidos usando o método desenvolvido estão em concordância com aquele obtido pelo valor certificado, já que nenhuma diferença estatística entre o resultado foi observado a nível de confiança de 99%. Pode verificar que o método proposto mostrou-se exato.

5.5.2.2- Determinação de Arsênio (III e V) em Amostras de Águas Reais

O objetivo do trabalho para a determinação de arsênio (III e V) em amostras de águas foi estabelecer um método químico de análise, sem abordar o aspecto de monitoramento ambiental e suas consequências..

A determinação de arsênio em amostras de água foi feita quantificando o teor de arsênio em águas de chuva e em amostras de águas destinadas ao abastecimento público.

As soluções foram injetadas no sistema F.I.A. em 10 replicatas. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9: Determinação de Arsênio (III e V) em Amostras de Águas

Amostras de Água	Concentração de As(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração de As(V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Água de chuva	$6,65 \pm 0,28$	< L.D.*
Água bruta	$6,11 \pm 0,28$	< L.D.*
Água malha	$5,47 \pm 0,29$	< L.D.*
Água tratada	$6,33 \pm 0,29$	< L.D.*

* Limite de Detecção para As (V) = $0,52 \mu\text{g L}^{-1}$

6 - CONCLUSÕES

O método desenvolvido é relativamente simples, de fácil operação e de baixo custo. O sistema para geração de hidreto, a cela de atomização e os acessórios necessários para a técnica A.I.F. são facilmente construídos e são materiais de consumo, portanto não encarecem o método.

A quantidade de borohidreto de sódio utilizada é pequena (250 μL de solução 1,0 % m/v em cada injeção). O cuidado que deve ser tomado durante a operação do sistema é a limpeza periódica da cela de atomização.

Nas condições experimentais otimizadas, os resultados obtidos para as variáveis que afetam a resposta analítica, para o método proposto foram: concentração de $\text{HCl} = 1,0 \text{ mol L}^{-1}$, concentração de $\text{NaBH}_4 = 1,0 \text{ \% (m/v)}$, volume injetado = 250 μL , vazão dos

carregadores = $3,6 \text{ mL min}^{-1}$, comprimento da bobina de reação = 50 cm, vazão do gás de arraste = 130 mL min^{-1} , e temperatura de atomização = 900°C .

O estudo de interferentes para o método em questão mostrou que vários elementos interferem na técnica de geração de hidreto para a determinação de arsênio, tanto na fase líquida quanto na fase gasosa.

De acordo com os resultados obtidos, o uso da resina de troca catiônica Amberlite IR-120 mostrou-se eficiente para eliminar o efeito da maioria dos íons interferentes estudados (Pb(II), Fe(III), Cu(II) e Al(III)), exceto para o íon Ni(II) na razão de 1:5000 (As: Ni).

Quanto à redução do efeito da interferência dos íons da fase gasosa, o uso da tiouréia 0,5% m/v mostrou-se suficiente para reduzir a interferência dos íons em fase gasosa.

Considerando o método desenvolvido para a determinação de arsênio (III e V) as figuras de mérito são: linearidade de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ para As(III) e $0,07 \text{ mg L}^{-1}$ para As(V), precisão (desvio padrão relativo) de 2,3% para $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ para As(III) e 1,7% para $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ para As(V), limite de detecção para o As (III) é de $0,35 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e para o As (V) é de $0,52 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e a frequência analítica é de 120 amostras por hora.

Neste trabalho, foi possível mostrar que os parâmetros estudados para o método desenvolvido utilizando a técnica F.I.A. e geração de hidretos para a determinação de arsênio possibilitaram a aplicação desta metodologia para amostras de águas.

Os sistemas de fluxo combinados à técnica de geração de hidretos mostraram-se versáteis e possibilitaram a determinação de arsênio em diferentes amostras num tempo relativamente curto.

Considerando os resultados obtidos na determinação de arsênio pelo sistema desenvolvido e as excelentes características apresentadas pelo sistema, propõe-se a continuidade do projeto para a aplicação da metodologia para outros tipos de amostras, como por exemplo amostras de urina.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Skeegs, Jr.; L.T.; Ruzicka, J.; Hansen, E.H. "Flow Injection Analysis" John Wiley & Sons, New York, 1981, 9.
- 2- Ruzicka, J.; Hansen, E.H. Anal. Chim Acta. 1975,78,145.
- 3- Rocha, F. R. P.; Reis, B. F. Química Nova 2000, 23,119.
- 4- Medel, A. S. Spectrochimica Acta 1998, 53B, 197.
- 5- Celková, A. ; Kubová, J.; Stresko, S. Fresenius J. Anal. Chem. 1996, 355,150.
- 6- Barra, C. M. ; Santello, R. E. ; Abrão, J. J. ; DeLa Guardia, M. Química Nova 2000, 3, 58.
- 7- Burguera, M.; Burguera, J. L. J. Anal. At. Spectrom.1993. 8, 229.
- 8- Pacey, G. E.; Ford, J. O. Talanta 1981, 28, 935
- 9- Haswell, S. I. ; O'Neil, P. ; Bancroft, K. C. C. Talanta 1985, 32, 69.
- 10- From the Greek word arsenikos and from Latin arsenicum by Stephen LePorsz.
- 11- Howard, A. G.; Hunt, L. E. Anal. Chem. 1993, 65, 2995.
- 12- Stockwell, P. B.; Corns, W. T. Analyst 1994, 119, 1641.
- 13- Stummeyer, J.; Harazin, B. ; Wippermann, T. Fresenius J. Anal. Chem. 1996, 354, 344.

- 14- Benramdane, L. ; Accominotti, M. ; Vallon, J. J. *Analyst* **1998**, 123, 1711.
- 15- Richer, C.; Azevedo, J. *Tratamento de águas, Tecnologia Atualizada* **1997**.
- 16- Petropulu, M. O.; Varsamis, I.; Parissakis, G. *Anal. Chim. Acta* **1997**, 337, 323.
- 17- Ballin, U.; Kruse, R.; Rüssel, H. A. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1994**, 350, 54.
- 18- Yan, X. P.; Kerrich, B.; Hendry, M. J. *Anal. Chem.* **1998**, 70, 4736.
- 19- Welz, B. J. *Anal. At. Spectrom.* **1998**, 13, 413.
- 20- Anderson, R.K.; Thompson, M.-, Culbard, E. *Analyst* **1986**, 111, 1143.
- 21- Burguera, M.; Burguera, J. L.; Brunetto, M. R.; DeLa Guardia, M.; Salvador, A. *Anal. Chim. Acta* **1991**, 261, 105.
- 22- Chatterjee, A.; Das, D.; Mandal, B. K.; Chowdhury, T. R.; Samanta, G.; Chakabrti, D. *Analyst* **1995**, 120, 643.
- 23- Feng, L. Y.; Chen, Y. H.; Tian, C. H. *Anal. Chim. Acta* **1998**, 375, 167.
- 24- Le, X. C.; Ma, M. J. *Chromatogr. A* **1997**, 764, 55.
- 25- Bias, O. J. de; Gonzalez, S. V.; Rodriguez, R. S.; Mendez J. H. *J. of AOAC Int.* **1994**, 77, 441.
- 26- Le, X. C.; Ma, M.; Wong, N. A. *Anal. Chem.* **1996**, 68, 4501.
- 27- Hanna, C. P.; Tyson, J. F.; McIntosh, S. *Clin. Chem.* **1993**, 39, 1662.

- 28- Quináia, S. P.; Rollemberg, M. C. E., J. Braz. Chem. Soc. **1997**, 8, 349.
- 29- Fang, Z.L. "Separation and Preconcentration in flow" VCH, Weinheim, **1993**.
- 30- W. Mertz, "Trace elements in human animal nutrition" 5th ed., Academic Press, N.Y., **1986**.
- 31- A. C. Aurillo, R. P. Mason, H. F. Hemond. Environ. Sci. Technol. **1994**, 28, 577.
- 32- J. Savory, M. R. Wills. Clin. Chem, **1992**, 38, 1565.
- 33- Brockmann, A.; Nonn, C.; Golloch, A. J. Anal. At. Spectrom, **1993**, 8, 397.
- 34- Brindle, I.D.; Alarabi, H.; Karshman, S.; Le, X.; Zheng, S.; Chen, H. Analyst **1992**, 117, 407.
- 35- Branch, C.H.; Hutchison, D. Analyst **1985**, 110, 163.
- 36- Sturman, B.T. Appl. Spectrosc. **1985**, 39, 48.
- 37- Reis, B. F. Quím. Nova **1996**, 19, 51.
- 38- Kahn, H. L. ; Schallis, J. E. At. Absorpt. Newst. **1968**, 7, 5.
- 39- Hershey, J.W.; Keliher, P.N.. Appl. Spectrosc. Rev. **1989-90**, 25, 213.
- 40- Moreda-Pifieiro, J.; Cervera, M. L.; DeLa Guardia, M. J. Anal. At. Spectrom. **1997**, 12, 1377.
- 41- Kalähne, R.; Henrion, G.; Hulanicki; A. Garbos, S.; Walcerz, M. Spectrochim. Acta **1997**, 52B, 1509.

- 42- Burguera, J. L.; Burguera, M. *Analyst* **1998**, 123, 561.
- 43- Ellis, R. I.; Sundin, N. G., et al *Analyst* **1998**, 123, 1627.
- 44- Dierg, W. W. ; Sturgeon, R. E. *Spectrochimica Acta* **1996**, 51 B, 1325.
- 45- Schaumlöffel, D., Neidhart, B. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1996**, 354, 866.
- 46- Risnes, A.; Lund, W. *J. Anal. At. Spectrom.* **1996**, 11, 943.
- 47- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Flow Injection Analysis*, 2nd Ed John Wiley & Sons, New York. **1988**.
- 48- Valcárcel, M; Luque de Castro, M. D.; *Flow Injection Analysis - Principles and Applications*, Ellis Horwood, Chichester. **1987**.
- 49- Fang, Z. "Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry" VCH, Weinheim, **1993**.
- 50- Fang, Z.; *Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry*, John Wiley & Sons, Chichester, **1995**.
- 51- Baluja-Santos, C.; Gonzalez-Portal, A. *Talanta* **1992**, 39, 329
- 52- Sturgeon, R. E.; Willie, S. N. ; Berman, S. S. *J. Anal. At. Spectrom.* **1986**, 1, 115.
- 53- Lin, Y. et al *J. Anal. At. Spectrom.* **1992**, 7, 287.
- 54- Machado, L. F. R.; Giné, M. F.; Jacintho, A. O . *Quím. Nova* **2000**, 23, 30.
- 55- Howard, A. G.; Salou, C. *Anal. Chim. Acta* **1996**, 333, 89.

- 56- López, J.C.; Reija, C.; Montoro, R.; Cervera, M. L.; DeLa Guardia, M. J. *Anal. At. Spectrom.* **1994**, 9, 651.
- 57- Grégoire, D. C.; Ballinas, M. de L. *Spectrochim. Acta* **1997**, 52B, 75.
- 58- Woller, A.; Mester, Z.; Fodor, P. J. *Anal. At. Spectrom.* **1995**, 10, 609.
- 59- Mester, Z.; Fodor, P. J. *Anal. At. Spectrom.* **1997**, 12, 363.
- 60- Hasegawa, H.; Sohrin, Y.; Matsui, M.; Hojo, M.; Kawashima, M. *Anal. Chem.* **1994**, 66, 3247.
- 61- Le, X. C.; Cullen, W. R.; Reimer, K. J. *Anal. Chim. Acta* **1994**, 285, 227.
- 62- López-González, M. A.; Gómez, M. M.; Palacios, M. A.; Cámara, C. *Chromatographia* **1996**, 43, 507.
- 63- Welz, B.; He, Y.; Sperling, M. *Talanta* **1993**, 40, 1917.
- 64- Schickling, C.; Yang, J.; Broekaert, J. A. C. J. *Anal. At. Spectrom.* **1996**, 11, 739.
- 65- López, M. A.; Gómez, M. M.; Palacios, M. A.; Cámara, C. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1993**, 346, 643.
- 66- Ng, J. C.; Hohnson, D. et al. *Analyst* **1998**, 123, 929.
- 67- Howard, A. G. J. *Anal. At. Spectrom.* **1997**, 12, 267.
- 68- Schaumlöffel, D.; Neidhart, B. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1996**, 354, 866.

- 69- Buidini, P. L.; Ferri, D.; Zini, Q. *Mikrochim. Acta* **1980**, 1, 71.
- 70- Lopez, A.; Torralba, R.; Palacios, M. A.; Camara, C. *Talanta* **1992**, 39, 1343.
- 71- Chen, H.; Rindle, I. D. *Anal. Chem.* **1992**, 64, 667.
- 72- Feng, Y. L.; Cao, J. P. *Anal. Chim. Acta* **1997**, 12, 267.
- 73- Nielsen, S.; Hansen, E. H. *Anal. Chim. Acta* **1997**, 343, 5.
- 74- Tsalev, D. L.; D'ulivo, A.; Lampugnani, L. *J. Anal. At. Spectrom.* **1996**, 355, 324.
- 75- Yin, X.; Hoffmann, E.; Ludke, C. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1996**, 355, 324.
- 76- Shraim, A.; Chiswell, B.; Olszowy, H. *Talanta* **1999**, 5, 1109.
- 77- Howard, A. G.; Salou, C. *J. Anal. At. Spectrom.* **1998**, 13, 683.
- 78- Chitsa, J. A.; Lupoli, N. et al. *Analyst* **1998**, 123, 441.
- 79- Le, X. C.; Cuilen, W. R.; Reimar, K. I. M.; Cámara, C. *Talanta* **1994**, 41, 495.
- 80- Chana, B. S.; Smith, N. *J. Anal. Chim. Acta* **1987**, 197, 177.
- 81- Atallah, R. H.; Kalman, D. A. *Talanta* **1991**, 38, 167.
- 82- Holak, W.; .. *Anal. Chem.* **1969**, 41, 1712.
- 83- Baluja-Santos, C.; Gonzalez-Portal, A. *Talanta* **1992**, 39, 329.
- 84- Pollock, E. N. ; West, S. J. *At. Absorpt. News.* **1972**, 11, 104.

- 85- Thompson, K.C.; Thomerson D.R.. *Analyst* **1974**, 99, 595.
- 86- Tsalev, D.L.; Mandjukov, P.B.; Stratis, J.A. *J. Anal. At. Spectrom.* **1987**, 2, 135.
- 87- Dedina, J. *Prog. Anal. Spectrosc.* **1988**, 11, 251.
- 88- CHU, R.C.; Barron, G.P.; Baumgarner, P.A.W. *Anal. Chem.* **1972**, 44, 1476.
- 89- Petterson, J. Hansson, L. Olin, A. *Talanta* **1986**, 33, 249.
- 90- Parisi, N.E.; Heyndrickx, A. *Analyst* **1986**, 111, 281.
- 91- Crock, J.G.; Lichte, F.E. *Anal. Chim. Acta* **1982**, 144, 223.
- 92- Bax, D. ; Van Elteren, J.T.; Agterdenbos, J. *Spectrochim. Acta* **1986**, 41B, 1007.
- 93- Agterdenbos, J.; Bax, D. *Fresenius' Z. Anal. Chem.* **1986**, 323, 783.
- 94- Verlinden, M.; Baart, J.; Deelstra, H. *Talanta* **1980**, 27, 633.
- 95- Smith, A.E. *Analyst* **1974**, 100, 300.
- 96- Pierce, F.D.; Brown, H.R. *Anal. Chem.* **1976**, 48, 693.
- 97- Kirkbright, G.F.; Taddia, M. *Anal. Chim. Acta* **1978**, 100, 145.
- 98- Dittrich, K.; Mandry, R.. *Analyst* **1986**, 111, 277.
- 99- Hershey, J.W.; Keliher, P.N. *Spectrochim. Acta* **1986**, 41B, 713.

-
- 100- Astrom, O.; *Anal. Chem.* **1982**, 54, 190.
- 101- Dulivo, A.; Papoff, P.. *Talanta* **1985**, 32, 383.
- 102- Yu, X.A.; Dong, G.X.; Li, C.X.. *Talanta* **1984**, 31, 367.
- 103- Brown, R.M.; Fry, R.C.; Moyers, J.L.; Northway, S.J.; Denton, M.B.; Wilson, G.S.;
Anal. Chem. **1981**, 53, 1560.
- 104- Chan, C.C. Y. *Anal. Chem.* **1985**, 57, 1482.
- 105- Boampong, C.; Brindle, I.D.; Le, X.; Pidwerbesky, L.; Ceccarelli Ponzoni, C.M.;
Anal. Chem. **1988**, 60, 1185.
- 106- Bye, R. *Analyst* **1986**, 111, 111.
- 107- Lajunen, L.H.J.; Merkkiniemi, T. ; Hayrynen, H. *Talanta* **1984**, 31, 709.
- 108- Bye, R.; Engvik, L.; Lund, W. *Fresenius' Z Anal. Chem.* **1984**, 318, 349.
- 109- Brindle, I.D.; Ceccareli Ponzoni, C.M. *Analyst* **1987**, 112, 1547.
- 110- Fleming, H.D.; Ide, R.G. *Anal. Chim. Acta* **1976**, 83, 67.
- 111- Halicz, L. *Analyst* **1985**, 110, 943.
- 112- Ebdon, L.; Wilkinson, J.R. *Anal. Chim. Acta* **1987**, 194, 177.
- 113- Thompson, M.; Pahlavanpour, B.; Walton, S.J.; Kirkbright, G.F. *Analyst* **1978**,
103, 705.

- 114- Fador, P.; Barnes, R.M. *Spectrochim. Acta* **1983**, 38B, 229.
- 115- Jones, J.W.; Capar, S.G.; O'Haver, T.C. *Analyst* **1982**, 107, 353.
- 116- Howard, G.; Arbar-zaver, M.H. *Analyst* **1981**, 106, 213.
- 117- Kingston, H.M.; Barnes, I.L.; Brady, T.J.; Rains, T.C.; Champ, M.A. *Anal. Chem.* **1978**, 50, 2064.
- 118- Hershey, J.W.; Keliher, P.N. *Spectrochim. Acta* **1989**, 44B, 329.
- 119- Valcárcel, M.; Luque de Castro, M.D. *J. Chromatogr.* **1987**, 393, 3.
- 120- Welz, B.; Melcher, M. *Analyst* **1983**, 108, 213.
- 121- 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, Instituto de Química, UNICAMP, Brasil, **1995**.

FU-00011740-B