

Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química- Departamento de Química Analítica



**DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO POR
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA
COM GERAÇÃO DE HIDRETO EM UM SISTEMA DE
INJEÇÃO EM FLUXO**

Tese de Doutorado

Aloísia Laura Moretto

Orientadora: Profa. Dra. Solange Cadore

Campinas – 2001

**" Se não houve frutos,
valeu a beleza das flores...
Se não houve flores,
valeu o verde das folhas...
Se não houve folhas,
valeu a semente aqui plantada..."**

Henfil

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos concedida;

Aos Diretores do Instituto de Química, prof. Dr. Célio Pasquini e prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin, pelas facilidades concedidas durante a realização deste trabalho;

Aos professores do Instituto de Química, que de uma forma ou de outra, nos socorreram no desenvolvimento do trabalho, especialmente o prof. Dr. Nivaldo Baccan;

Aos amigos do laboratório: Helena, Noemi, Vilarinho, Gisele, Anderson, Regina, Martha, Júlio, Antenor, Teresa, Rita, Rafael e Paulo Queiroz pela amizade, pelo companheirismo, e também pelo apoio técnico e moral durante o tempo todo;

Aos funcionários da secretaria de pós-graduação, da biblioteca e das oficinas do Instituto de Química;

Ao Marcelo Antonio Morgano, pelas amostras de café e de pescado fornecidas, além da colaboração para o pré-tratamento das mesmas, nas dependências do Centro de Química de Alimentos e Nutrição do Itai-Campinas;

Ao Ricardo Perobelli Borba, pelo fornecimento das amostras de água da região de Ouro Preto, MG;

À Flávia de Lima Alves e ao Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda, pela disponibilidade de uso do forno de microondas para os ensaios com amostras de vinhos;

E, de forma muito especial

À Prof. Dra. SOLANGE CADORE, pela maneira carinhosa de orientar, discutir o trabalho, compreender-me nas horas difíceis, e acima de tudo, a incentivar-me a não desistir de alcançar meus objetivos...

Muito obrigado!!

CURRICULUM VITAE

I. Última Formação Acadêmica

- MESTRA em QUÍMICA - área: Química Orgânica
Universidade Estadual de Campinas, tese defendida em 04/1992.

II. Recentes Participações em Eventos Científicos

- Moretto, A.L. e Cadore, S. "Otimização dos Parâmetros de um Sistema para a Determinação de Arsênio por AAS com Geração de Hidreto e Análise por Injeção em Fluxo". 22a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Poços de Caldas- MG, 25-28/maio/1999
- Moretto, A.L.; Poppi, R.J. e Cadore, S. "Planejamento Fatorial e Algoritmo Genético para a Seleção das Condições de Operação de um Sistema de Geração de Hidreto e Análise por Injeção em Fluxo na Determinação de Arsênio" 10º ENQA- Encontro Nacional de Química Analítica. Santa Maria, RS 31/ago -03/set/1999
- Moretto, A.L. e Cadore, S. "Estudo de Interferentes e Mascarantes na Determinação de Arsênio por AAS com Geração de Hidretos e análise por Injeção em Fluxo" 23ª. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Poços de Caldas- MG, 23-26/maio/2000
- Ribeiro, A S.; Moretto, A.L.; Arruda, M.A. Z. and Cadore, S. "Development of a New Electrothermal Cell Employing Tungsten Coil for Determination of Arsenic by Hydride-Generation-Atomic Absorption Spectrometry- Flow System". 8th International Conference on Flow Analysis, Warsaw, Poland june, 25-29/ 2000
- Moretto, A.L., Alves, F.L.; Arruda, M.A.Z. and Cadore, S. "Determination of As in Beverages by a Hydride Generation- Atomic Absorption- Flow System". 4th European Furnace Symposium and XVth Slovak Spectroscopic Conference, High Tatras-Podbanské, Slovakia, june, 12-16/ 2000
- Ribeiro, A. S.; Moretto, A.L.; Arruda, MAZ e Cadore, S. "Determinação Rápida de macro e Micro Elementos em Amostras de Café Solúvel e Leite em Pó por ICP OES após Tratamento da Amostra com TMAH". VII ENCI Encontro Nacional de Contaminantes Inorgânicos e II Simpósio sobre a Essencialidade de Elementos na Nutrição Humana, Itai, Campinas, 25-27/out/2000

- Moretto, A.L.; Morgano, M.A. e Cadore, S. "Determinação de Arsênio em Amostras de Peixes Empregando Espectrometria de Absorção Atômica com geração de Hidreto e Análise por Injeção em Fluxo". XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, CE 08-10/08/2000
- Moretto, A.L. and Cadore, S. "Determination of As in Food and Beverages by Flow Injection Analysis Hydride generation and Atomic Absorption Spectrometry" Sixth Rio Symposium of Atomic Spectrometry Universidad de Concepcion, Chile, dec ,3-9 2000
- Ribeiro, A. S.; Moretto, A.L.; Arruda, MAZ e Cadore, S. "Determination of As Using na Electrothermal Cell with Tungsten Coil in a Hydride generation and Atomic Absorption Spectrometry- Flow Injection". Sixth Rio Symposium of Atomic Spectrometry. Universidad de Concepcion, Chile, dec ,3-9 2000
- Soares, AM; Moretto,A.L.; Macedo, E; Damim, MAS e Carmelocci, VM.." Projeto Ciência na Escola:As Bases Naturais da Água em um Espaço Altamente Urbanizado: O Caso da Cidade de Campinas". 13° COLE – Congresso Brasileiro de Leitura, Unicamp, SP 17-20/julho/2001
- I CIENTEC- Feira de Ciência e Tecnologia
"Projeto Ciência na Escola" sub-projeto: "Água: Qualidade e Distribuição na Cidade de Campinas" Unicamp, SP - 24/08 a 02/09/ 2001
- Moretto, AL e Cadore, S. "Efeito do Etanol na Determinação de As em Vinhos Empregando um Sistema FIA-HG-AAS". 11° ENQA- Encontro Nacional de Química Analítica, Unicamp, SP, 18-21/09/2001

III. Publicação em Revistas Científicas

MORETTO, A. L. and RODRIGUES, J. A. R. "Synthesis of 7-Ethoxycarbonyl-7,8-dehydrorutecarpine: A of Alchalozyd *Rhutacarpine* derivated" . *J. Chem. Res.* 1, 1993, 24-25.

TEREZINHA J.G. SALVA; ALCINA M. LISERRE; ALOÍSIA L. MORETTO; MARCO A.T. ZULLO; GISLEINE VENTRUCCI e TOBIA J.B. MENEZES "Some Enzymatic Properties of Cholesterol Oxidase Produced by *brevibacterium sp*". *Revista de Microbiologia*, 1999, 30, 315-323.

IV. Experiência Profissional

Projetos de Pesquisa:

- *ITAL- Instituto de Tecnologia de Alimentos*
Projeto: "Seleção de microrganismos degradadores do colesterol"
Otimização das condições de produção da enzima e desenvolvimento da metodologia para identificação e quantificação dos produtos de degradação do colesterol. Bolsa RHAE/ DTI- CNPq;
Laboratório de Biotecnologia/ TECNOLAT, Período: 02/95 a 11/96
- *E. E. Prof. Aníbal De Freitas*
Projeto: CIÊNCIA na ESCOLA; Eixo temático: Meio ambiente
"Água – Distribuição, Consumo, Poluição e Conservação"
Apoio financeiro : FAPESP;
LEIA, Faculdade de Educação, Unicamp; Iniciado em março/2000, em andamento.

Estágios:

- *IAC- Instituto Agrônomo de Campinas*
Seção de Fitoquímica, Fazenda Santa Elisa, Período: 21/ 06 a 31/10/1996
Atividades desenvolvidas: Identificação de compostos orgânicos e produtos naturais por cromatografia gasosa e GC-MS.
- Programa de Estágio de Capacitação Docente- PED II
auxiliar didático na disciplina QA-282 Química Clássica; primeiro semestre/2001;
auxiliar didático na disciplina AM-019- Trabalhos Comunitários, segundo semestre de 2001.

Vínculo Empregatício:

- *E E "Prof. Aníbal de Freitas"*
Professora Titular de Cargo - Química
- *Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio- Colégio Voiron-Objetivo-Ensino Médio- Professora de Química.*

ÍNDICE

RESUMO	xxi
ABSTRACT	xxiii
I. INTRODUÇÃO	01
OBJETIVOS	03
I.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	03
I.1.1. Arsênio: Ocorrência, Aplicações e Toxicidade	03
I.1.2. Espectrometria Atômica para a Determinação de Arsênio	06
I.1.3. Geração de Hidretos	09
I.1.3.1. Procedimentos Empregados para a Geração do Hidreto	10
I.1.3.2. Coleta do Hidreto	11
I.1.3.3. Atomizadores	11
I.1.3.4. Transferência do Hidreto ao Atomizador	12
I.1.3.5. Mecanismo de Atomização do Hidreto	14
I.1.4. Interferências no Método de Geração de Hidretos	16
I.1.5. Pré-concentração de Arsênio	21
II. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	25
II.1. Material e Instrumentação	25
II.1.1. Sistema de Injeção em Fluxo.....	25
II.1.2. Separador Gás-Líquido	25
II.1.3. Atomizador Eletrotérmico	26
II.1.4. Calibração do Atomizador	25
II.1.5. Sistema de Detecção	27
II.1.6. Digestores das Amostras	27
II.1.7. Sistema de Injeção em Fluxo para a Determinação de Arsênio	28

II.1.8. Sistema em Fluxo Empregado na Etapa de Pré-Concentração de Arsênio	29
II.2. Reagentes e Soluções	30
II.2.1. Solução Padrão de Arsênio	31
II.2.2. Outras Soluções Empregadas no Trabalho.....	31
II.2.3. Reagentes Empregados na Pré-concentração de Arsênio	32
II.2.3.1. Mini-coluna para a Pré-concentração de Arsênio	32
II.2.4. Outros Estudos para a Pré-concentração de Arsênio	32
II.2.4.1. Suportes Sólidos Testados	33
II.2.4.2. Suportes Sólidos Modificados com Reagentes Complexantes	33
II.2.4.3. Reagentes Complexantes	33
II.2.4.4. Eluente	33
II.2.4.5. Soluções Empregadas	34
II.3. Estudo das Variáveis do Sistema FIA-HG	34
II.4. Amostras	36
II.4.1. Café em Grãos	36
II.4.2. Peixe de Água Doce	37
II.4.3. Suco de Fruta Industrializado	38
II.4.4. Vinhos	38
II.4.4.1. Pré-tratamento das Amostras	38
II.4.4.2. Introdução Direta no Sistema de Análise com e sem o Procedimento de Evaporação em Chapa	38
II.4.4.3. Mineralização Ácida em Forno de Microondas	39
II.4.5. Água Mineral	39
II.4.6. Água de Superfície e Água Subterrânea	40
II.4.7. Material de Referência Certificado	41
III. RESULTADOS OBTIDOS E DISCUSSÃO	43
III.1. Otimização dos Parâmetros do Sistema FIA-HG	45
III.1.1. Emprego do Método Univariado	45
III.1.1.1. Efeito do Comprimento da Bobina de Reação.....	45
III.1.1.2. Efeito do Volume de NaBH_4 e da Amostra Injetados	47

III.1.1.3. Efeito da Concentração do Reagente Redutor, NaBH ₄	48
III.1.1.4. Efeito da Concentração de Ácido Clorídrico no Carregador e na Diluição da Amostra	49
III.1.1.5. Efeito de Diferentes Ácidos Empregados no Preparo da Amostra	50
III.1.1.6. Efeito da Vazão dos Carregadores	51
III.1.1.7. Efeito da Vazão do Gás de Arraste	52
III.1.1.8. Efeito da Temperatura de Atomização	54
III.1.2. Emprego do Método Multivariado	55
III.1.3. Parâmetros Otimizados para o Sistema FIA-HG-AAS	60
III.2. Estudos de Interferência para a Determinação de Arsênio por FIA-HG-AAS	61
III.3. Estudo dos Possíveis Mascarantes para Eliminar ou Minimizar a Interferência	64
III.3.1. Mascarantes para a Interferência na Fase Líquida	64
III.3.2. Mascarantes para a Interferência na Fase Gasosa	65
III.3.3. Efeito do Mascarante em uma Amostra	67
III.4. Figuras de Mérito	68
III.5. Determinação de Arsênio em Diferentes Matrizes	70
III.5.1. Peixe de Água Doce	71
III.5.2. Sucos de Frutas	73
III.5.3. Vinho Branco e Vinho Tinto	74
III.5.4. Água de Rio	78
III.5.5. Água de Superfície e Água Subterrânea	79
III.5.6. Água Mineral	80
III.6. Estudos para a Pré-concentração de Arsênio	82
III.6.1. Testes Preliminares	82
III.6.2. Ensaios Definitivos para a Pré-concentração	86
III.6.2.1. Natureza do Material Adsorvente	86

III.6.2.2. Efeito da Vazão <i>versus</i> Tempo de Pré- concentração	87
III.6.2.3. Efeito da Concentração do Eluente	88
III.6.2.4. Efeito do Tempo e Vazão para a Eluição	88
III.6.2.5. Durabilidade do Adsorvente na Coluna de Pré- concentração	89
III.6.3. Parâmetros Otimizados para a Pré-concentração de As	89
III.6.4. Figuras de Mérito para a Pré-concentração	90
III.6.5. Determinação de Arsênio em Águas Empregando o Sistema de Pré-concentração	92
IV. CONCLUSÕES	94
V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
VI. ANEXOS	110
VI.1. Tratamento do Resíduo de Arsênio	110
VI.2. Dados Referentes ao Material Certificado Oyster Tissue	111
VI.3. Dados Referentes ao Material Certificado Cod Muscle	112
VI.4. Dados Referentes ao Material Certificado River Sediment	113
VI.5. Curva de Calibração e Sinais Gráficos para o Tecido de Ostra Mineralizado em Forno de Microondas	114

ÍNDICE de FIGURAS

Figura II.1- Configuração do sistema FIA-HG-AAS para a determinação de As	28
Figura II.2- Configuração utilizada para a pré-concentração de As	30
Figura III.1- Variação da temperatura (°C) no interior da câmara de atomização em função da voltagem (V) aplicada à resistência de Ni-Cr, na presença da capa de alumínio	44
Figura III.2- Efeito do comprimento da bobina de reação na determinação de As	46
Figura III.3- Efeito do volume de injeção de amostra e de reagente redutor na determinação de As	47
Figura III.4- Efeito da concentração de NaBH₄ na determinação de As	48
Figura III.5- Efeito da concentração HCl usado no carregador e na diluição da amostra	50
Figura III.6- Efeito da vazão dos carregadores na determinação de As	52
Figura III.7- Efeito da vazão do gás de arraste na determinação de As	53
Figura III.8- Efeito da temperatura de atomização da arsina na determinação de As	54
Figura III.9- Efeito da interferência na fase líquida para a determinação de As	62
Figura III.10- Efeito da interferência na fase gasosa para a determinação de As	63
Figura III.11- Curva analítica para arsênio obtida com o sistema FIA-HG-AAS sem a adição de KI/ácido ascórbico empregado para calcular as figuras de mérito.....	69

Figura III.12- Efeito do etanol no sinal analítico de uma solução de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III)	76
Figura III.13- Efeito do tempo de pré-concentração no sinal analítico de uma solução com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de As	88
Figura III.14- Curvas de calibração para As com e sem a etapa de pré-concentração pelo sistema proposto	91

ÍNDICE de TABELAS

Tabela I.1- Espécies de arsênio com os respectivos valores de pKa	05
Tabela I.2- Aplicações de sistemas em fluxo para gerar a arsina e outros hidretos	13
Tabela I.3- Pré-concentração e determinação de As em sistemas em fluxo	23
Tabela II.1- Massa e fator de diluição empregados para as amostras de peixe	37
Tabela III.1- Efeito de diferentes ácidos na geração da AsH ₃	51
Tabela III.2- Valores dos níveis alto e baixo selecionados para a realização do planejamento fatorial 2 ⁶⁻¹ na determinação de arsênio com geração de hidreto	56
Tabela III.3- Planejamento fatorial 2 ⁶⁻¹ e sinais de respostas obtidos	57
Tabela III.4- Planejamento fatorial 3 ³ para encontrar os valores ótimos de [As], [NaBH ₄] e volumes de injeção no processo de geração da arsina	58
Tabela III.5- Resultados obtidos do planejamento fatorial 3 ³ na determinação de arsênio.....	58
Tabela III.6- Resultados obtidos na otimização dos parâmetros do sistema FIA-HG para a determinação de As	60
Tabela III.7- Estudo da razão KI/ácido ascórbico em função da recuperação de As	66
Tabela III.8- Recuperação de As em diferentes condições de mascarante/redutor (n=3)	68

Tabela III.9- Determinação de As em material de referência certificado	70
Tabela III.10- Determinação de As (mg kg^{-1}) em amostras de peixe usando 2 diferentes técnicas de detecção	72
Tabela III.11- Recuperação de As inorgânico em amostras de sucos de frutas	74
Tabela III.12- Efeito de diferentes misturas ácido-digestoras para mineralização de vinho branco	77
Tabela III.13- Resultados de recuperação de As em vinhos por diferentes procedimentos de introdução de amostra no sistema FIA-HG-AAS	77
Tabela III.14- Recuperação de As inorgânico ($\mu\text{g L}^{-1}$) para amostras de água de rio	79
Tabela III.15- Concentração de As ($\mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de água de superfície (rio) e água subterrânea (mina e nascente)	79
Tabela III.16- Recuperação de As ($\mu\text{g L}^{-1}$) em água mineral	81
Tabela III.17- Condições usadas nos testes iniciais do estudo da pré-concentração	83
Tabela III.18- Emprego de derivados do DTC na pré-concentração de As	84
Tabela III.19- Condições empregadas no sistema para a pré-concentração de arsênio	90
Tabela III.20- Concentração de As ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrado em águas incluindo a etapa de pré-concentração	92

RESUMO

Autora: Aloísia Laura Moretto

Orientadora: Profa. Dra. Solange Cadore

Foi empregado um método para a determinação de arsênio em amostras ambientais e alimentos em um sistema de Análise por Injeção em Fluxo com Geração de Hidreto e detecção por Espectrometria de Absorção Atômica, FIA-HG-AAS. Usando a configuração de zonas coalescentes em confluência, volumes de 150 μL da amostra e do reagente redutor, NaBH_4 1,0% em KOH 0,05 mol L^{-1} foram introduzidos em fluidos carregadores, HCl 1,0 mol L^{-1} e água, respectivamente, a vazões de 2,8 mL min^{-1} . A arsina (AsH_3) foi gerada numa bobina de reação de 30 cm, introduzida num separador gás-líquido tipo varredura, separada da fração líquida por um fluxo de gás nitrogênio (90 mL min^{-1}) e transportada até a câmara de atomização, um tubo de quartzo eletricamente aquecido (880-900°C), alinhado no caminho óptico do espectrômetro. A fração líquida foi continuamente bombeada para o descarte. Os íons Fe(III) , Ni(II) , Cu(II) , Cr(III) , Hg(II) , Se(VI) , Se(IV) , Sb(V) , Sb(III) , Sn(II) and Bi(III) interferiram na determinação de As mas foram minimizados com o uso de KI e ácido ascórbico [0,5:1% (m/v)], em HCl 5,0 mol L^{-1} . O limite de detecção, calculado como 3 vezes o desvio padrão do branco, foi de 340 ng L^{-1} , correspondente a 51 pg de As, e frequência de amostragem de 135 injeções/hora. O desvio padrão relativo, RSD, foi de 5,0 % para soluções de arsênio de 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de 1,8 % e 30 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Para a pré-concentração *on-line* de As foi empregada uma mini-coluna ($\Phi_i=3$ mm; $h=3,5$ cm) contendo 50 mg da resina de troca aniônica fortemente básica Dowex 1-X8-200. Para 2 minutos de pré-concentração foi obtido um fator de enriquecimento igual a 6 e limite de detecção de 96 ng L^{-1} correspondente a 14 pg de As, com um RSD de 3,2% (1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) e frequência de amostragem de 15 determinações/hora.

A exatidão do método foi avaliada com o uso de material de referência certificado e os valores obtidos foram concordantes com os certificados a 95% de confiabilidade.

ABSTRACT

Author: Aloísia Laura Moretto

Adviser: Dr. Solange Cadore

A method for As determination using Flow Injection Analysis coupled to Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry (FIA-HG-AAS) was applied to analysis of environmental and food samples. A flow injection system with a merging zones manifold was used, where the sample and the reductor reagent were simultaneously injected into two carrier streams, HCl and water, respectively. The arsine generated, AsH_3 , was continuously introduced into a gas-liquid separator, the liquid phase flows to waste 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 30 cm; sample and reagent injected volume of 150 μL ; 1.0% (m/v) NaBH_4 and 1.0 mol L^{-1} HCl, temperature of atomization of 880-900°C; flow rate of 2.8 mL min^{-1} for the carrier solutions and flow rate of 90 mL min^{-1} for the nitrogen gas. Some elements cause interferences in the FIA-HG-AAS technique in both liquid and gaseous phases. It was found that Fe(III), Ni(II), Cu(II), Cr(III), Hg(II), Se(VI), Se(IV), Sb(V), Sb(III), Sn(II) and Bi(III) reduced the analytical signals but this may be overcome by the addition of a mixture of ascorbic acid and potassium iodide, KI-AsA, 0.5:1 % (m/v) in 5.0 mol L^{-1} HCl. The detection limit was calculated as 340 ng L^{-1} corresponding to 51 pg of As, with RSD of 5.0 % and 1.8 % for 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ and 30 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The sampling rate was 135 injections per hour.

The on-line preconcentration procedure used a mini-column ($\Phi_i=3$ mm; $h=3.5$ cm) packed with Dowex 1-X8 anionic exchange resin. For 2 min of preconcentration time an enrichment factor of 6 and a limit of detection of 96 ng L^{-1} was obtained, corresponding to 14 pg of arsenic with RSD of 3.2 % (1.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ of As), allowing a sampling frequency of about 15 determinations per hour.

The accuracy was evaluated by analyzing with certified reference materials and the results obtained were agree within 95% confidence.

I. INTRODUÇÃO

A sociedade mundial tem procurado, na química analítica, respostas aos problemas científicos, ambientais, médicos e agrícolas, dentre outros tantos que nos são reportados quotidianamente, muitos dos quais mostram as conseqüências decorrentes da "contaminação" por metais pesados⁽¹⁾ no ambiente e em sistemas biológicos. Muitos compostos inorgânicos, principalmente íons metálicos, podem desempenhar dupla função na fisiologia dos organismos: alguns são indispensáveis à vida, enquanto que outros, considerados tóxicos, como os metais pesados em concentrações elevadas ou não, levam à perda das funções vitais e deformidades dos órgãos.⁽²⁾ Assim sendo, a química analítica ocupa uma posição de destaque no *ranking* tecnológico, uma vez que é sempre solicitada, quer seja no desenvolvimento de novas metodologias de análise, no monitoramento dos dejetos lançados no meio ambiente ou no controle da qualidade em análises clínicas e nos produtos consumidos pela sociedade.

Nos últimos anos, as técnicas analíticas vêm sofrendo um processo muito grande de desenvolvimento tecnológico, onde a automação dos sistemas de análise é cada vez maior, propiciando uma rapidez excepcional e, ainda, técnicas que alcançam limites de detecção com ordens de grandeza tão ínfimas, antes não imagináveis. Entretanto, na maioria dos laboratórios de análise de rotina, os métodos instrumentais de análise disponíveis nem sempre apresentam as características desejadas quanto à sensibilidade e seletividade para detectar diretamente a espécie em estudo, havendo a necessidade de se combinar procedimentos analíticos com a instrumentação disponível. Um recurso é a introdução de uma ou mais etapas de pré-tratamento da amostra, bem como etapas de pré-concentração. Metais traço são componentes naturais da biosfera. O termo *elemento-traço* é muito usado na literatura para designar elementos que ocorrem em pequenas concentrações e seus sinônimos aceitos são: metais traço e inorgânicos traço.⁽²⁾

Embora alguns metais sejam essenciais para a vida, todos são suficientemente tóxicos em altas concentrações e, para alguns deles, o intervalo entre a essencialidade e a toxidez é estreito. ⁽³⁾

Para a determinação de As, Se, Sb, Bi, Sn, Pb e Ge, ao nível de traço, a Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos é uma técnica extremamente versátil e amplamente empregada.⁽⁴⁾ A geração de hidreto possibilita uma separação prévia do analito gasoso dos demais constituintes da matriz e, associada à alta eficiência na introdução da amostra gasosa no sistema de atomização, resulta em boa sensibilidade e facilidade de automação.⁽⁴⁾ Somente nos últimos cinco anos (1997 a 2001) foram publicados cerca de 290 trabalhos, nos quais a determinação do arsênio é feita pela geração da arsina, AsH₃, empregando diferentes sistemas de detecção. Pelo elevado número de publicações existentes na literatura é que se obtém uma boa evidência da versatilidade e eficiência da espectrometria atômica com Geração de Hidreto.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi empregar um método eficiente para a determinação de arsênio por Geração de Hidreto em um sistema de Injeção em Fluxo, mediante a detecção por Espectrometria de Absorção Atômica (FIA HG AAS) em matrizes ambientais e alimentícias. Foi proposto um sistema para a pré-concentração *on line*, empregando uma resina de troca aniônica a fim de melhorar o limite de detecção.

I.1.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I.1.1. ARSÊNIO: Ocorrência, Aplicações e Toxicidade

O arsênio pertence à família 15 (ou grupo V) da tabela periódica e, em seus compostos, pode apresentar-se no estado de oxidação +3, +5 e -3. É um metal cinza prateado com a superfície brilhante, a qual torna-se opaca na presença da umidade do ar.⁽⁵⁾ Enquanto “*Arsenikon*”, nome originário do grego que significa “valente, temível, desafiador”, foi atribuído aos sulfetos naturais contendo o elemento, a palavra arsênio ficou conhecida através dos tempos pelo poder de suas propriedades letais e, hoje em dia, é sinônimo de toxidez.⁽⁶⁾ Sua abundância na crosta terrestre é de aproximadamente 0,0006%, distribuídos como traços em minerais, o que implica em pouca importância econômica sendo a arsenopirita (FeAsS) é o mineral que mais contribui para a sua obtenção (46% em peso).⁽⁷⁾ O As encontra-se também como contaminante nos minérios de ouro, cobalto, níquel, antimônio⁽⁵⁾ e manganês.⁽⁸⁾

O arsênio existe na natureza em diversas formas químicas, incluindo as espécies inorgânicas e as orgânicas, estas últimas resultantes de sua participação em processos biológicos, químicos e algumas aplicações industriais.⁽⁹⁾ Arsênio inorgânico está distribuído em toda a biosfera.⁽¹⁰⁾ água de mar não poluída contém de 2-3 $\mu\text{g L}^{-1}$; a crosta terrestre possui uma concentração média de 2 $\mu\text{g kg}^{-1}$, e a concentração na fauna e flora marinha varia de 1 a 30 $\mu\text{g g}^{-1}$, caracterizados em compostos organo-arsênicos, como arsenocolina e arsenobetaína, uma vez que nas vias metabólicas o nitrogênio e o fósforo podem ser trocados pelo arsênio, acumulando-se nestes organismos.

As propriedades químicas mostram que o arsênio combina-se com outros metais para formar arsenetos, com o oxigênio para formar o trióxido e o pentóxido de arsênio, e ainda com hidrogênio nascente para formar o hidreto de arsênio, arsina, que é um gás muito tóxico.^(5,7,11) O arsênio elementar, na forma metálica, tem seu uso limitado na indústria eletrônica em função da necessidade de elevado

grau de pureza: na produção de materiais semicondutores associado ao gálio ou índio, e na produção de diodos.⁽⁵⁾ Na forma de trióxido de arsênio, é matéria prima para a produção de herbicidas e inseticidas nas culturas de algodão, café e arroz; na indústria química, é empregado como agente descolorante e espessante na produção de vidros, enquanto a arsina é empregada como "dopante" na manufatura de semicondutores.⁽⁵⁾ Compostos derivados de As, como clordietilarsênio⁽¹²⁾ e a Lewisita (Cl-CH=CH-AsCl₂)⁽¹³⁾ já foram utilizados como armas químicas.

O arsênio elementar não é tóxico, mas é rapidamente convertido a produtos tóxicos pelo organismo humano. Compostos contendo As(III) são consideravelmente mais tóxicos do que aqueles que contêm As(V), entretanto são os óxidos os mais problemáticos.^(5,8) Por outro lado, os organo-arsênicos, como a arsenobetaina e arsenocolina, são relativamente menos tóxicos; a LD₅₀ (dose letal para 50% de uma população de camundongos) com As₂O₃ ou com Ca₃(AsO₄)₂ é de 20 mg kg⁻¹ enquanto que para arsenobetaina e arsenocolina não é observado sinal de toxicidade após a dose oral de 10 g kg⁻¹ e 6,5 g kg⁻¹, respectivamente.⁽¹⁰⁾ A maior parte dos compostos contendo arsênio, orgânico ou inorgânico, penta ou trivalente, são convertidos pelo organismo ao trióxido, o qual reage muito rapidamente com os grupos -SH das proteínas, inibindo a ação enzimática e bloqueando a respiração celular.⁽⁵⁾ A absorção de arsênio elementar e de seus compostos pelo organismo pode ocorrer por ingestão, inalação e absorção, sendo que em aproximadamente 24 horas os compostos se distribuem em diferentes órgãos como fígado, baço, rins e pulmões.⁽⁵⁾ Quando ocorre sua ingestão, os sintomas mais comuns começam com vômitos e diarreia podendo chegar à desidratação e choque.⁽⁵⁾ Se for inalado, sintomas como náusea, vertigem e dispnéia são observados a curto prazo. Casos de câncer pulmonar já foram diagnosticados em trabalhadores agrícolas expostos a razoáveis teores de trióxido de arsênio. A absorção através da pele leva à hiperpigmentação, hiperqueratose e câncer de pele.⁽⁵⁾ Um procedimento empregado para a desintoxicação de seres humanos se dá pela reação de metilação do arsênio inorgânico.⁽¹⁰⁾ Este processo ocorre nos rins e o produto formado tem sua afinidade reduzida para

com o tecido renal, sendo excretado pela via urinária. Como o grau de toxidez está associado ao estado de oxidação e à forma química, uma avaliação dos diferentes compostos de arsênio e seus respectivos valores de pKa informam as possíveis formas químicas do arsênio em função do pH (Tabela I.1).

Tabela I.1- Espécies de arsênio com os respectivos valores de pKa. (reprodução de Barra et al.)⁽¹⁰⁾

Composto	Fórmula estrutural	pKa
Arsina	AsH ₃	-
Ácido arsenioso As(III)	O=As-OH	9,3
Ácido arsênico As(V)	OH O=As-OH	2,3
	 OH	6,9
		11,4
Ácido monometilarsônico MMAA (V)	OH O=As-OH CH ₃	3,6
		8,2
Ácido Dimetilarsínico DMAA (V)	CH ₃ O=As-OH CH ₃	1,6
		6,2
Arsenobetaina (AsB)	CH ₃ CH ₃ -As-CH ₂ -C(=O)OH CH ₃	4,7
Arsenocolina (AsC)	CH ₃ CH ₃ -As-CH ₂ -CH ₂ -OH CH ₃	-

O procedimento de desintoxicação mais eficaz pode ser indicado, avaliando-se a presença de uma determinada forma química de arsênio.⁽¹⁰⁾

Acidentes de repercussão mundial,⁽¹⁴⁾ como os ocorridos em Bengala do Oeste e em Bangladesh, foram extensamente citados na literatura.^(7,8,15) Nestes casos, parte da população foi dizimada pela ingestão de água contaminada com arsênio. Há aproximadamente 25 anos iniciou-se o processo de intoxicação da

população local, quando a UNICEF e a ONU perfuraram poços artesanais para o abastecimento de água, os quais estavam contaminados por As. Além da população atual, também as próximas gerações sofrerão as consequências desta contaminação, em função do consumo da água contaminada.⁽¹⁴⁾

A contaminação das águas e dos solos pode ocorrer naturalmente, sendo que por ações de intemperismo, de erosão e vulcanismo, o arsênio é liberado para o ambiente a partir dos minérios.⁽⁷⁾ A contaminação também pode ocorrer de uma forma antropogênica, devido aos rejeitos de empresas de mineração lançados no ambiente.⁽⁷⁾ A utilização dos compostos de arsênio na indústria, e o uso de fertilizantes, herbicidas, pesticidas e desfolhantes, na agricultura, pode acarretar na contaminação dos alimentos *in natura*, além do solo e água.⁽¹⁶⁾

No Brasil, são conhecidas pelo menos duas regiões contaminadas: municípios de Nova Lima e de Ouro Preto, na região do Quadrilátero Ferrífero,^(17,18) em Minas Gerais, onde há contaminação natural e antropogênica por arsênio, relacionada com a mineração secular de ouro, e a vila do Elesbão⁽⁹⁾ na cidade de Macapá, no Amapá. As prováveis fontes de contaminação do ambiente e, conseqüentemente, da população são decorrentes dos rejeitos das minerações de ouro e manganês, respectivamente. As autoridades locais e nacionais já foram alertadas quanto à contaminação da população.

Como o As é um metal tóxico ao organismo humano, sendo sua toxicidade dependente da forma química como é absorvido, considera-se necessário o monitoramento desta espécie no meio ambiente, em função dos problemas desencadeados nos sistemas biológicos. É necessária também uma conscientização por parte dos empresários, além de uma legislação mais rigorosa com relação ao destino final dos produtos lançados no meio ambiente.

I.1.2. Espectrometria Atômica para a Determinação de Arsênio

Os efeitos nocivos causados por metais pesados em sistemas biológicos desencadearam, nas décadas de 70 e 80, uma busca incessante para o

desenvolvimento de procedimentos analíticos mais sensíveis.⁽¹⁹⁻²¹⁾ Assim, técnicas analíticas como a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS), a Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (ETAAS) e a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) são adequadas para a determinação de traços de metais pesados em matrizes diversas, ocupando uma posição de destaque frente a outras técnicas analíticas.⁽²¹⁾

Várias são as técnicas instrumentais para a determinação de arsênio nas mais diferentes matrizes, sendo empregados com maior frequência aquelas que envolvem a espectrometria de absorção atômica,^(4,19) em função da disponibilidade da instrumentação. A seleção para o emprego de uma ou outra técnica instrumental pode ser feita levando-se em consideração a sensibilidade analítica, o limite de detecção, as características da matriz, o tempo da análise e o custo.

A espectrometria de absorção atômica, AAS, foi apresentada à comunidade científica em 1955, por Walsh, que demonstrou que os íons metálicos podiam ser reduzidos em uma chama e que a concentração desses íons seria determinada pela absorção da luz monocromática incidente.⁽²²⁾ Quase todos os elementos metálicos podem ser determinados empregando-se a AAS, a baixos níveis de concentrações. No entanto, elementos como antimônio, arsênio, bismuto, selênio, germânio e telúrio são difíceis de se determinar pela nebulização direta da solução em uma chama de ar-acetileno ou de hidrogênio-argônio.⁽²¹⁾ Outro problema relacionado a estes metais é que as linhas de ressonância estão na região espectral do ultravioleta distante (190 a 230 nm), onde a absorção de fundo proveniente dos gases da chama é grande, e o emprego de chamas com outras composições gasosas pode resultar no aumento de interferências causadas por uma incompleta dissociação dos átomos na chama e absorção molecular da espécie.⁽²¹⁾

A ETAAS surgiu como uma alternativa ao uso da chama. Foi assim que, em 1961, L'vov⁽²³⁾ publicou um trabalho em que a amostra era depositada na superfície de um eletrodo móvel de grafite e, em seguida, introduzida em um tubo de grafite revestido com uma folha de tântalo, o qual era aquecido eletricamente.

Este sistema possibilitava a atomização da amostra numa única etapa, fornecendo uma nuvem atômica mais concentrada e, dessa maneira, uma melhor sensibilidade era alcançada, com menor consumo da amostra. Entretanto, o uso deste sistema, na época, apresentou problemas como dispersão de luz, interferências da matriz e absorção molecular para alguns elementos, como o arsênio, além da perda de elementos voláteis durante o aquecimento.⁽²¹⁾ Este problema pode ser contornado com o uso de modificadores químicos ou, ainda, com modificadores permanentes, os quais podem ser utilizados como um complemento ou, mesmo, uma alternativa aos modificadores químicos.⁽²⁴⁾

Para contornar os problemas decorrentes do emprego da atomização eletrotérmica com forno de grafite e também com chama, elementos como arsênio, antimônio, bismuto, chumbo, germânio, selênio e telúrio, capazes de gerar hidretos gasosos, podem ser determinados após a sua separação da matriz, pelo acoplamento do método de geração de hidreto (HG) com a espectrometria de absorção atômica, HG-AAS.^(4,21) Entretanto, este método pode apresentar efeitos causados por interferências dos outros elementos formadores de hidretos que, presentes na matriz, reduzem significativamente o sinal analítico. O uso de sistemas de injeção em fluxo⁽²⁵⁾ é vantajoso para as diversas etapas envolvidas no processo de geração de hidretos, podendo minimizar os efeitos de interferência.

A geração de hidretos aliada à espectrometria de emissão óptica com plasma de argônio acoplado indutivamente, HG-ICP OES, mostra-se bastante versátil para a determinação de arsênio em matrizes salinas, uma vez que o transporte e a introdução do analito no plasma ocorre como um hidreto gasoso. Este procedimento elimina as interferências dos metais alcalinos, alcalinos terrosos e do cloreto, que podem causar a supressão do sinal devido à formação de espécies poliatômicas (ArCl^+ , ArNa^+ , OCl^- , etc.).⁽¹⁰⁾ Entretanto, somente as espécies que geram hidretos podem ser detectadas simultaneamente, limitando a determinação multielementar, um dos principais atrativos para o emprego de ICP OES em análises de rotina.

A espectrometria de massas com plasma de argônio indutivamente acoplado, ICP-MS, é o procedimento com a melhor sensibilidade dentre as

técnicas espectroanalíticas, alcançando limites de detecção da ordem de ng L^{-1} e até inferiores. A vantagem do acoplamento da geração de hidretos ao ICP-MS está na introdução do analito no plasma como um gás, obtendo-se uma maior estabilidade do plasma quando da determinação de As em amostras salinas. Porém, o hidrogênio gasoso, gerado como produto da reação de formação do hidreto, também é introduzido no plasma e pode alterar a eficiência de ionização do plasma.⁽¹⁰⁾

A espectrometria de fluorescência atômica (AFS) vem despontando, nos últimos anos, como outra possibilidade para a determinação de metais e, acoplada à geração de hidreto, oferece uma sensibilidade superior ou equivalente à obtida por HG-ETAAS, com custo reduzido, sem a necessidade do uso dos tubos de grafite, surgindo como uma alternativa para a determinação de As.⁽¹⁰⁾

Desta forma, as técnicas que utilizam a espectrometria atômica, associada à geração de hidretos, oferecem uma maior sensibilidade, seletividade e simplicidade na determinação de As.

I.1.3. Geração de Hidretos

A geração de hidretos fundamenta-se na conversão do analito em um hidreto gasoso, transportado ao sistema de atomização por um gás inerte.

Há mais de cem anos são conhecidas reações para gerar hidretos.^(4,21) Um exemplo disto é a clássica reação de Marsh e o teste de Gutzeit, ambos para a determinação de arsênio.⁽²⁶⁾ O primeiro trabalho relatado na literatura para determinação de arsênio por geração de hidreto gasoso e detecção por AAS foi apresentado em 1969, por Holak⁽²⁷⁾ e, desde então, esta técnica vem sendo bem difundida e aprimorada.

A formação do hidreto e a determinação da espécie de interesse por AAS consiste nas etapas:^(4,26)

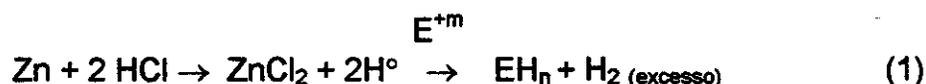
- geração do hidreto propriamente dita;

- coleta do hidreto, quando necessário;
- transferência do hidreto para o atomizador;
- decomposição do hidreto, gerando a espécie de interesse.

I.1.3.1. Procedimentos Empregados para a Geração do Hidreto

O hidreto pode ser gerado através do uso de diferentes agentes redutores, classificados de maneira geral como: redutores metálicos em meio ácido e borohidreto de sódio em meio ácido.⁽²¹⁾

Na redução metal/ácido emprega-se Zn/HCl (ácido sulfúrico pode ser usado em combinação com ácido clorídrico) para a formação da arsina, de acordo com a equação 1:



onde m é igual ou diferente de n e E é o elemento de interesse. Por este processo, a amostra em solução acidificada é tratada com o agente redutor para promover a formação do hidreto, o qual é expelido do sistema reacional por um gás inerte até atingir o atomizador. Zinco em pó,⁽²⁹⁾ tabletes de zinco e caolim⁽³⁰⁾ e uma coluna recheada com zinco granular⁽³¹⁾ foram empregados como alternativa ao uso do zinco granular.⁽²⁷⁾ Outras reações metal/ácido fazem uso de alumínio em pó⁽²⁸⁾ e magnésio/tricloreto de titânio.⁽³²⁾ A desvantagem do método que emprega metal/ácido como sistema de redução e formação do hidreto é o elevado tempo de reação (± 10 minutos), dificultando a automação do sistema.⁽³³⁾

Outro método, mais usado até os dias de hoje, emprega uma solução de NaBH_4/HCl , segundo a reação representada pela equação 2:



A vantagem da utilização do borohidreto de sódio como agente redutor é que a reação torna-se mais rápida (poucos segundos) e reduz todos os elementos: arsênio, antimônio, bismuto, chumbo, estanho, germânio, selênio e telúrio. O redutor pode ser usado em solução,⁽³⁴⁾ em forma de pastilha⁽³⁵⁾ ou, ainda, imobilizado em uma resina de troca aniônica.⁽³⁶⁾

No 11° ENQA, Encontro Nacional de Química Analítica, foi apresentado um trabalho no qual a solução aquosa contendo As foi colocada na presença de zinco metálico e, então, submetida à radiação ultra-sônica, gerando a arsina.⁽³⁷⁾ A formação da arsina ocorre por um fenômeno conhecido como cavitação, por formação, crescimento e “colapso” de micro-bolhas no interior do líquido exposto ao campo acústico. A alta energia produzida durante o “colapso” das micro-bolhas, sob efeito de elevadas pressões e temperaturas, promove a geração dos radicais hidrogênio.

I. 1.3.2. Coleta do Hidreto

Na redução com Zn^0/HCl e nos processos em batelada, o hidreto formado pode ser coletado em um coletor (“trap”) de nitrogênio líquido⁽²⁷⁾ ou num balão de borracha,⁽²⁹⁾ para posteriormente ser atomizado na chama de um espectrômetro de absorção atômica; por outro lado, o uso de borohidreto de sódio elimina esta etapa e o hidreto é transportado ao atomizador por um gás inerte.

I. 1.3.3. Atomizadores

Um grande avanço foi dado na determinação dos metais dos grupos 14, 15 e 16 quando atomizadores eletrotérmicos foram empregados alternativamente à chama. Chu et al.⁽³⁸⁾ empregaram um tubo de Vycor eletricamente aquecido, colocado no caminho óptico do espectrômetro de absorção atômica, e a arsina foi introduzida no interior do tubo por um fluxo de argônio. A vantagem do emprego

de atomizadores deste tipo é o aumento da sensibilidade devido à um maior tempo de residência da espécie no caminho óptico, e a diminuição da absorção de fundo dos gases provenientes da chama. Atualmente, os atomizadores são construídos em quartzo, com extremidades abertas ou fechadas com janelas de quartzo.⁽³⁹⁾ Porém, quando se usa um atomizador com extremidades abertas, sinais de absorção de fundo podem ocorrer devido a ignição da mistura ar-hidrogênio nas extremidades do tubo.⁽³⁹⁾ A diminuição da temperatura nestas áreas elimina este problema sem a necessidade de se passar um gás inerte ou, então, fechá-las com as janelas de quartzo. O aquecimento do tubo pode ser feito com um fio de Ni-Cr enrolado externamente em sua superfície.⁽⁴⁰⁾

I. 1.3.4. Transferência do Hidreto ao Atomizador

Os procedimentos usados para a introdução da amostra ou do analito no atomizador podem ser mecanizados, semi-automatizados e automatizados. A primeira proposta para a automação dos sistemas de análise foi apresentada por Skeggs⁽⁴¹⁾, com o uso de analisadores de fluxo contínuo. Uma das modalidades de sistemas em fluxo é a análise por injeção em fluxo (FIA), introduzida por Ruzicka e Hansen⁽⁴²⁾, em 1975, na época um procedimento inovador referente à introdução das amostras nos sistemas de análise. Para a geração de hidreto, a Análise por Injeção em Fluxo foi empregada pela primeira vez, por Aström, na determinação de bismuto.⁽⁴³⁾ Liversage et al.⁽⁴⁴⁾ relataram a primeira aplicação do sistema FIA-HG-ICP OES para a determinação de arsênio. Atualmente, uma tendência para a automação é o desenvolvimento de procedimentos de análise miniaturizados e auto-ajustáveis, controlados por um microcomputador.

Num sistema de injeção em fluxo, com zonas coalescentes em confluência, a amostra é introduzida em um fluxo carregador contínuo, quimicamente inerte, sofrendo dispersão, cujo processo, na HG-AAS, está sob condições bem controladas.⁽²⁵⁾ Como ocorre a formação de hidrogênio nos tubos condutores, após o ponto de mistura entre a amostra e o agente redutor, os sistemas FIA-HG

não se enquadram em sistemas de fluxo estritamente não segmentados; o analito é determinado em uma fase gasosa, separado da mistura líquida reacional.^(25,45) A extensão da evolução de gás hidrogênio e o grau de distorção do sinal causado pela geração de gás nos tubos condutores, depende da concentração dos reagentes utilizados, sendo a concentração de NaBH_4 responsável pela quantidade de hidrogênio gerado, enquanto que a concentração de HCl determina a cinética da reação.⁽⁴⁵⁾

A Tabela I.2 apresenta algumas aplicações analíticas de sistemas FIA-HG-AAS, para a determinação de arsênio em diferentes tipos de amostras.

Tabela I.2- Aplicações de sistemas em fluxo para gerar a arsina e outros hidretos.

Matriz	Elemento	Comentários	Referência
Solos	As, Se	Comparação entre métodos de digestão "off line" entre microondas e digestão Kjeldahl; recuperação As e Se 93-105 %	46
Água mineral e de tomeira	As total	Comparação entre o sistema FIA e CF	47
Sedimento de estuário	As, Se, Hg	Análise de material certificado; dificuldade de digestão da matriz	48
Folhas de tomateiro; espinafre	As, Se	Análise de material certificado; pré-redução "off line"; FIA para gerar o hidreto	49
Urina	As total	LC-FIA-AAS; especificação de As; metabólitos separados por cromatografia líquida; sistema FIA para gerar arsina proveniente de cada metabólito	50
Ligas; aços	As	CF para isolar o analito da matriz e "stopped flow" para pré-redução "on line"	51
Aços; ligas Ni	As, Se, Sb, Bi	Comparação entre as técnicas GF-AAS e FI-HG-AAS	52

CF= do inglês, *continuous flow*

Entre as vantagens do sistema FIA associado ao HG-AAS, em relação aos procedimentos em batelada, destacam-se a alta precisão (e, portanto, menor

limite de detecção), diminuição do consumo de reagentes e amostras, elevada frequência analítica, facilidade para a automação do sistema, a simplicidade de operação em linha, diminuição do risco de contaminação e um menor efeito das espécies interferentes.⁽²⁵⁾ Outra consideração a ser feita é a tendência da química analítica de minimizar a quantidade de amostra a ser usada, em razão de sua disponibilidade e da geração de resíduo no final da reação.

Um dos fatores que afetam o processo de atomização da espécie de interesse é a eficiência da separação do hidreto. Nos sistemas em fluxo deve ser usado um separador gás-líquido, para separar o hidreto gasoso do meio reacional, e permitir a sua transferência ao atomizador. Para tal finalidade, vários separadores gás-líquido estão descritos na literatura empregando, por exemplo, um funil de Büchner,⁽³⁵⁾ um tubo em U,⁽⁵³⁾ uma membrana de PTFE,^(54,55) e um reator-separador gás-líquido do tipo varredura.⁽⁴⁰⁾

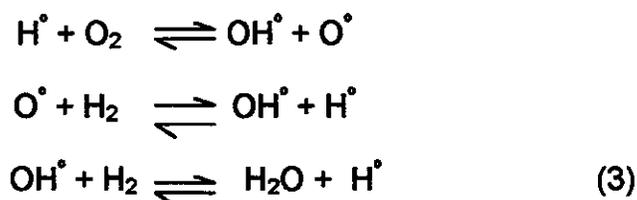
O uso dos sistemas em fluxo associados à HG-AAS na determinação de elementos formadores de hidreto foram também empregados na determinação de outros metais, como Zn, Cd, Cu, Au e Ag, presentes em níveis baixos de concentração, capazes de gerar "vapor", semelhantes aos elementos formadores de hidreto na reação com borohidreto de sódio.⁽⁵⁶⁾

I. 1.3.5. Mecanismos de Atomização do Hidreto

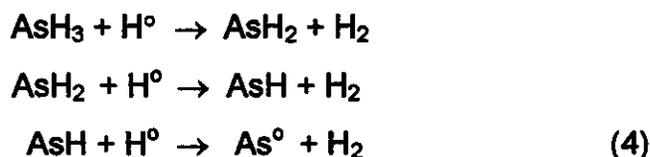
Em relação ao mecanismo de atomização dos hidretos, alguns estudos estão relatados na literatura mas não existem trabalhos conclusivos, devido à sua complexidade. A idéia inicialmente aceita para o termo "atomização eletrotérmica" indicava que o hidreto era atomizado por decomposição térmica.⁽⁴⁾ Porém, é difícil associar o processo de atomização devido exclusivamente à temperatura, uma vez que a atomização da arsina ocorre em torno de 800-1000°C quando se usa um tubo eletricamente aquecido, enquanto que num forno de grafite temperaturas

em torno de 1700-1800°C são necessárias para atomizar AsH_3 e SeH_2 . Estudos termodinâmicos demonstram que os hidretos sofrem decomposição à temperaturas baixas formando moléculas diméricas e não ocorrendo a formação de átomos.⁽⁵⁷⁾ A atomização do SeH_2 em um tubo de quartzo aquecido com uma chama fria (hidrogênio-oxigênio) foi investigada por Dedina e Rubeska,⁽⁵⁸⁾ os quais concluíram que a atomização do hidreto é causada pela presença de radicais livres gerados na chama, e que a presença de oxigênio, além do hidrogênio, aumentou a sensibilidade da medida.

Para Welz e Melcher,⁽⁵⁹⁾ o mecanismo da atomização da arsina, quando se emprega um tubo de quartzo eletricamente aquecido, é decorrente das colisões entre as moléculas de hidreto e radicais hidrogênio gerados, e o oxigênio é necessário para que os processos ocorram a baixas temperaturas (~600°C). Os radicais hidrogênio são gerados na reação com borohidreto de sódio em meio ácido (equação 2) e também pela reação com o oxigênio, segundo o mecanismo, descrito nos equilíbrios representados em (3).^(58,59)



A formação dos átomos da espécie de interesse é proporcional ao número de colisões dos radicais livres com o hidreto, e um excesso destes radicais aumenta a eficiência da atomização, que ocorre segundo as reações descritas em (4).⁽⁵⁹⁾



Na ausência de gás hidrogênio a arsina não sofre atomização, mas ocorre sua decomposição, processo este observado quando a arsina pura foi transportada ao atomizador pelo gás de arraste. Por outro lado, o grupo de Bax e Agtenderbos^(60,61) defende a proposta de que a presença de radicais hidrogênio (que devem estar em excesso em relação à concentração de As) catalisa a reação de atomização, e que o oxigênio deve estar presente a baixas concentrações, a fim de oxidar o hidreto. Os radicais hidrogênio devem estar presentes em excesso em relação ao oxigênio, a fim de evitar a oxidação dos átomos de arsênio. Para estes pesquisadores a reação de atomização da arsina ocorre segundo a equação 5:



Confirmando os estudos anteriores, Welz e Melcher,⁽⁵⁹⁾ verificaram que na ausência de hidrogênio o hidreto é decomposto termicamente e que durante o processo de atomização existem radicais hidrogênio no tubo de quartzo aquecido, fazendo parte do mecanismo de atomização, apesar de não ter sido possível determinar a concentração dos mesmos.

Tesfalidet et al.⁽⁶²⁾ confirmaram a proposta de mecanismo de atomização via radicais hidrogênio num estudo envolvendo o monitoramento da produção e concentração destes radicais.

I.1.4. Interferências no Método de Geração de Hidretos

A geração de hidretos está livre das interferências apresentadas pela espectrometria de absorção atômica com chama, devido à separação das espécies de interesse sob a forma de hidreto gasoso, a qual já elimina a presença da matriz no sistema de atomização. Entretanto, podem ocorrer outras interferências como absorção de fundo, presença de alquil e aril compostos em amostras biológicas e ambientais, diferentes estados de oxidação de um mesmo

elemento presente na amostra, além dos efeitos devidos aos demais elementos que geram ou não os hidretos.^(19,20)

As interferências na técnica de HG-AAS podem ser divididas em dois grupos: interferência na fase líquida e interferência na fase gasosa.⁽⁶³⁾ A **interferência na fase líquida** ocorre no meio reacional, durante a formação do hidreto ou durante a transferência do hidreto do meio reacional líquido para o atomizador, devido à mudanças na velocidade de formação do hidreto e/ou diminuição na eficiência de formação do mesmo, e pode ser dividida em dois grupos: interferências de elementos em diferentes estados de oxidação e aquela devido ao efeito de matriz. Elementos como o arsênio, selênio e antimônio podem existir em solução em dois estados de oxidação e, quando presentes em amostras ambientais e biológicas, existem ainda em diferentes formas orgânicas.⁽²⁰⁾ Neste caso, é necessário destruir completamente todo o material orgânico na etapa de pré-tratamento da amostra antes da determinação da espécie de interesse. A interferência de matriz pode afetar a formação do hidreto, assim como alguns ácidos minerais empregados no processo de mineralização da amostra.⁽⁶⁴⁾ O efeito de HNO_3 em sistemas de geração de hidretos é bem conhecido,⁽⁶⁵⁾ o qual reage com o NaBH_4 , oxidando-o e também provocando a oxidação do analito ao maior estado de oxidação. Metais alcalinos e alcalinos terrosos não interferem, mas os metais que podem ser reduzidos pelo NaBH_4 como Co, Ni, metais do grupo do cobre e os metais nobres causam interferência. Alguns mecanismos de interferência na fase líquida estão propostos na literatura. Smith⁽⁶⁶⁾ propôs a redução preferencial do metal interferente para o menor estado de oxidação ou para o estado elementar e, nesse caso, o metal precipitado poderia causar a co-precipitação do analito, adsorvendo o hidreto formado, decompondo-o cataliticamente ou retardando a sua geração.

A ordem de adição dos reagentes pode ser um fator importante no efeito de interferência na determinação de arsênio e selênio.⁽⁶⁷⁾ Quando borohidreto de sódio foi adicionado antes do ácido clorídrico, observou-se a formação de um precipitado, que pode conter os íons Fe (II), Co (II), Cd (II), Pb (II) e Ag(I), e uma diminuição do sinal analítico, sugerindo uma competição entre o analito e o íon

interferente pelo agente redutor. Invertendo-se a ordem de adição, a interferência não aconteceu.⁽⁶⁷⁾ As concentrações do agente redutor e do ácido também foram estudadas e um aumento da concentração de ácido, de 1 a 5 mol L⁻¹, manteve constante os valores analíticos na determinação de arsênio.⁽⁶⁸⁾ Por outro lado, foi observado que o aumento da acidez da solução diminui o efeito interferente devido às espécies que são reduzidas na presença do reagente redutor, pela formação de cloro-complexos.^(34,69)

A interferência devido à diferença no estado de oxidação do analito foi descrita por Thompson e Thomerson,⁽⁷⁰⁾ que observaram uma redução de 30% no sinal analítico resultante da redução de As(V) em relação ao sinal analítico obtido com As(III). Desta forma, é necessário o uso de agentes redutores auxiliares para eliminar este tipo de interferência. Siemer et al.⁽⁷¹⁾ verificaram que o KI foi o redutor auxiliar mais eficaz para a redução de As(V), dentre os redutores estudados: íons titânio, sulfito, tiosulfato, ascorbato, iodeto e hidrazina. A redução empregando KI ocorreu em um pouco mais de 1 minuto, em meio fortemente ácido (HCl 5 mol L⁻¹), decaindo para 11 minutos em solução de HCl 1,5 mol L⁻¹. Ácido ascórbico foi adicionado ao KI, para estabilizá-lo e prevenir a sua oxidação pelo ar ou por Fe(III), evitando a formação de I₃⁻, segundo a equação 6:



A reação descrita em (6) é extremamente dependente da concentração de iodeto, da acidez, da temperatura, da composição da matriz e dos agentes oxidantes empregados para a digestão das amostras. A presença de I₃⁻ em excesso leva à formação de AsI₃, que pode ser perdido por volatilização em sistemas abertos, e também de I₂, que pode ser arrastado juntamente com o gás hidrogênio, provocando um elevado sinal da linha de base.

Os procedimentos mais recentes empregados para a pré-redução *on line* de As(V) utilizam derivados organo-sulfurados. Dentre eles, a L-cisteína⁽³⁶⁾ (2-4%) em ácido mineral diluído (HCl 0,01 mol L⁻¹), numa temperatura de 70-100°C, promove a redução de As(V) a As(III) em aproximadamente 1 minuto; porém,

quando este mesmo procedimento é efetuado à temperatura ambiente, o processo de redução leva de 1 a 2 horas para se completar. Atualmente, a literatura⁽⁷²⁻⁷⁶⁾ enfatiza os procedimentos empregando a L-cisteína em sistemas *on line*, uma vez que as condições nas quais a reação se processa são bem mais brandas quando comparadas aos sistemas empregando KI-HCl, KI-ácido ascórbico-HCl, o que aumenta a vida útil das partes metálicas dos equipamentos de análise.⁽⁷³⁾

A interferência na fase gasosa⁽⁶³⁾ deve-se aos elementos que formam hidretos voláteis e pode ocorrer no dispositivo de geração, nos tubos de condução e, também, no atomizador. A interferência na fase gasosa pode ser dividida em: a) interferência devido ao transporte do hidreto para o atomizador, causando decréscimo ou perda do sinal analítico; b) interferência durante a atomização, que ocorre na presença de radicais hidrogênio, acarretando dois tipos de efeitos: b1) alteração na população dos radicais hidrogênio; b2) diminuição dos átomos livres do analito, devido às suas reações com os interferentes na fase gasosa. Na determinação de arsênio, em tubos de quartzo aquecidos externamente, a interferência de antimônio na fase gasosa é resultante da formação de moléculas diatômicas como AsSb, estáveis à temperatura de atomização da arsina.⁽⁷⁷⁾ Para Dedina,⁽⁶³⁾ dos elementos que geram hidretos, somente As e Bi causam interferência na fase líquida preferencialmente à fase gasosa, mas todos causam interferências na fase gasosa, para determinações de Se em batelada, devido a uma rápida diminuição dos átomos livres do analito ou a uma diminuição da população dos radicais H[•]. Ao contrário de outros pesquisadores, para este autor o tempo de contato entre o interferente e o analito, As e Se e também Bi e Se, na fase líquida, após a adição do redutor, não foi considerado importante para explicar os efeitos de interferência observados.

O efeito da concentração de diferentes ácidos sobre o sinal analítico de As, na geração de hidreto, mostra uma tolerância do meio reacional com ampla faixa de acidez, com HCl variando de 1 a 9 mol L⁻¹. Segundo Kang e Valentine,⁽⁶⁴⁾ concentrações de HNO₃ <13%, H₂SO₄ <22% e HClO₄ <25% não causam nenhum efeito adverso na determinação dos hidretos, nos procedimentos realizados em batelada; porém, em concentrações maiores, esses ácidos diminuem

acentuadamente o sinal analítico, na determinação de As. Para Fiorino et al.,⁽⁷⁸⁾ o resíduo de HNO_3 que permanece após um procedimento de mineralização da matriz tem pouco efeito sobre a geração do hidreto de selênio e da arsina, mas a matéria orgânica presente por oxidação incompleta inibe a formação do hidreto. Bronwn et al.⁽⁶⁵⁾ salientam que os inibidores da formação e evolução da AsH_3 e SeH_2 são os óxidos voláteis, provenientes dos procedimentos de mineralização ácida da matriz empregando HNO_3 . O íon nitrito gerado é um potente interferente ou precursor da interferência dos óxidos voláteis, e pode ser mascarado com o uso do ácido sulfâmico ($\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$).

A identificação dos íons interferentes e procedimentos para eliminar ou minimizar seus efeitos são importantes no desenvolvimento de uma metodologia de análise. A presença dos interferentes depende da matriz, das condições experimentais, do sistema de geração do hidreto e do atomizador usado. Muitos são os procedimentos utilizados para eliminar ou diminuir a interferência das espécies tanto na fase líquida quanto na fase gasosa. O procedimento mais simples é aumentar a acidez do meio reacional ou, então, alterar a quantidade de NaBH_4 ou, ainda, utilizar reagentes auxiliares.⁽²¹⁾ A literatura^(69,79-83) descreve o uso de tiouréia, EDTA, 1,10-fenantrolina e tiossemicarbazida, KI e misturas destes reagentes. Wolnik et al.⁽⁸⁴⁾ verificaram que Sb(V) foi reduzido a Sb(III) empregando KI como redutor auxiliar, porém, o KI não reduz Se(VI) a Se(IV) , mas sim a Se^0 , com a formação de um precipitado alaranjado. O uso de KI, na presença de α -hidroxiácidos, como o ácido málico, láctico e cítrico pode minimizar a interferência de Se e Sb na determinação de As por HG-AAS.⁽⁸²⁾

Outros estudos utilizam material polimérico (Resinas Chelex 100,^(80,85-87) AG 50W-X16⁽⁸⁷⁾ e Dowex 50W-X16^(52,87) para separar os elementos interferentes na determinação de As, Se e Sb.

I.1.5. Pré-Concentração de Arsênio

Quando a espécie de interesse está presente numa concentração muito pequena em relação aos concomitantes da matriz, torna-se necessário enriquecê-la, recorrendo-se às técnicas de pré-concentração procurando manter, na medida do possível, a rapidez da análise. Efetua-se este procedimento quando a instrumentação analítica disponível não apresenta sensibilidade para a determinação do analito.

Uma vasta literatura encontra-se disponível descrevendo procedimentos de separação e pré-concentração.^(26,88,89) Entre estes, tem-se a precipitação e a co-precipitação, a cristalização, a troca-iônica, extração líquido-líquido e extração líquido-sólido, a eletrodeposição, a eletroforese e a volatilização, empregada para a pré-concentração de uma fase gasosa.⁽⁸⁸⁾ Estes procedimentos são selecionados de acordo com a natureza da matriz a ser analisada, dos elementos a serem determinados, da sensibilidade e seletividade técnica analítica a ser utilizada, da simplicidade operacional, do tempo gasto e do custo envolvido para sua execução.

A extração líquido-sólido consiste da transferência do analito de um meio líquido para um meio sólido, pela passagem da solução que contém a espécie de interesse através de um meio sólido, com características sorventes.^(26,88) Este meio sólido é denominado suporte sólido e pode, ou não, conter um reagente complexante para a imobilização do analito. Alguns materiais empregados como suporte sólidos, utilizados com bastante frequência, são as resinas de troca iônica,⁽⁹⁰⁾ as sílicas do tipo C₁₈^(91,92) e do tipo C₁₆,⁽⁹³⁾ o carvão ativo,^(94,95) a alumina⁽⁹⁶⁾ e a sílica-gel.⁽⁹⁷⁾

Diferentes propostas para a pré-concentração de arsênio são conhecidas, desde o uso de reagentes complexantes para promover a extração líquido-sólido até os procedimentos que empregam a separação por volatilização e os mecanismos de sorção da arsina.⁽⁸⁸⁾ O hidreto gerado pode ser pré-concentrado antes de alcançar o atomizador, através do resfriamento⁽²⁷⁾ (aprisionamento do gás por um processo criogênico) ou, então, por quimiossorção na superfície do

forno de grafite revestido (com paládio, ou outros metais nobres do grupo da platina)⁽⁹⁸⁾, o que implica em uma boa eficiência de pré-concentração, uma vez que a mesma é realizada *in situ*. Tsalev⁽³⁶⁾ ressalta que para pré-concentração de hidretos, as tendências baseiam-se no aprisionamento do gás no próprio dispositivo de atomização (VG-ET-AAS, Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor e Atomização Eletrotérmica) ou no aprisionamento do hidreto em um “trap criogênico” num sistema VG-CT-AAS (Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor e Aprisionamento Criogênico).

Alternativamente a esses métodos, as reações mais comuns para a pré-concentração de arsênio envolvem o uso de agentes complexantes derivados dos ditiocarbamatos (DTC), como dietilditiocarbamato de sódio (NaDDTC)^(99,100) e pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC).⁽¹⁰¹⁾ O arsênio pode ser quantitativamente extraído da matriz na forma de As^{+3} , enquanto o As^{+5} não é complexado. Outros sistemas de extração líquido-sólido empregam derivados da 8-hidroxiquinolina (8-HQ)⁽⁹⁶⁾ e de ditiolfosfatos (DTP)^(91,102) para a separação da espécie de interesse com a finalidade de enriquecê-la.

A Tabela I.3 mostra algumas aplicações analíticas para a determinação de As, com a etapa de pré-concentração a partir das espécies inorgânicas de arsênio, em sistemas em fluxo.

Para os sistemas de pré-concentração em fluxo, Fang^(25,105) considera o fator de enriquecimento (EF) a razão entre a concentração da espécie analítica na fase concentrada, C_c , e a concentração na amostra original, C_s . Porém, na prática, a avaliação do EF não é tão simples, uma vez que a concentração da espécie analítica na fase concentrada é desconhecida. Uma definição aceitável para EF é a razão do coeficiente angular da seção linear da curva de calibração antes e após a etapa de pré-concentração. Assim, a avaliação do EF é feita em função do aumento na resposta analítica e não com o aumento da concentração.

Tabela I.3 - Pré-concentração e determinação de As em sistemas em fluxo.

Matriz	Considerações	Sistema de detecção	Fator de Enriquecimento	Referência
Água	NaDDTP/ SiO ₂ -C ₁₈ As total (As ⁺³); eluente: HCl 10%	ET-AAS	30 vezes	91
Água de mar	8-HQ-5-SO ₃ H/ Al ₂ O ₃ As ⁺³ , As ⁺⁵ ; As total Eluente: HCl 10%	HG-AAS	10 vezes As(V) 12 vezes As(III)	96
Água e amostras biológicas	NaDDTC; As total (As ⁺³); extração com CHCl ₃	HG-AAS	Não cita	100
Água tratada e açúcar	ADTP/ SiO ₂ -C ₁₈ As total (As ⁺³) Eluente: HCl 0,5 mol L ⁻¹ Interf: Pb, Cu, Fe, Ni eluídos com EtOH	HG-UV-VIS	~10 vezes	102
Água	co-pptação As(III): La(OH) ₃ e Hf(OH) ₄ ; reator Knotted eluente:HCl 1,0 mol L ⁻¹	HG-AAS	32 vezes	103
Águas	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Retenção de As(III) e As(V)	HG-ICP OES	7 vezes	104

Entre as vantagens apresentadas pelos sistemas de pré-concentração em fluxo, quando comparados aos sistemas de análise em batelada, destacam-se:⁽¹⁰⁵⁾

- Elevada frequência analítica (1-3 ordens de grandeza maiores que os procedimentos em batelada);
- Baixo consumo de amostra e reagentes (1-2 ordens de grandeza menores que os procedimentos em batelada);
- Facilidade de automação;
- Baixo risco de contaminação;
- Alta repetibilidade.

Alguns parâmetros importantes devem ser considerados quando são utilizadas colunas para a pré-concentração nos sistemas em fluxo, tais como: ^(105,106)

- Pressão no sistema em fluxo: esta pressão depende das dimensões da coluna e do suporte sólido, e também da vazão do fluxo na coluna; assim, os parâmetros vazão, volume da amostra, tamanho da coluna e o tamanho das partículas do sólido devem ser inicialmente considerados;
- Vazão de pré-concentração e de eluição: maiores vazões para a retenção e menores vazões para a eluição do analito são desejadas para fornecer elevados valores de EF, porém vazões elevadas limitam à capacidade do sistema manter-se estável às elevadas variações da pressão no sistema;
- O eluente não deve atacar o suporte sólido; caso isso ocorra, a eluição afetará o fator de enriquecimento;
- A vazão de eluição está diretamente relacionada com a sensibilidade e eficiência dos sistemas, sendo um fator crítico e depende da espécie retida e da força do eluente em arrastar todo analito;
- Sentido do fluxo de eluição: o sentido reverso é muitas vezes necessário para evitar os problemas decorrentes do preenchimento não uniforme da coluna, além de diminuir o efeito da dispersão durante a eluição;
- Etapas de condicionamento e lavagem da coluna e/ou o emprego de amostras tamponadas garantem a sensibilidade e precisão do método.

Considerando o atual estágio de desenvolvimento da HG-AAS e dos procedimentos para pré-concentração de arsênio, propõe-se determinar esta espécie química, em baixas concentrações. As características diferenciadas de cada tipo de amostra requerem etapas de tratamento adequadas, incluindo o procedimento de pré-concentração.

II. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

II.1. Material e Instrumentação

II.1.1. Sistema de Injeção em Fluxo

O sistema FIA de zonas coalescentes em confluência utilizado para a determinação de arsênio é constituído por uma bomba peristáltica Gilson, modelo Miniplus 3 (8 canais) e tubos de bombeamento Tygon (Technicon). Tubos de polietileno (CPL ref. 90, com 0,8 mm de diâmetro interno) são empregados na construção dos condutores do sistema de fluxo e também para a bobina de reação. Um injetor tipo proporcional modificado⁽¹⁰⁷⁾ empregado como unidade de comutação para a introdução das soluções, e um conector, empregado para a confluência dos reagentes, ambos confeccionados em acrílico, são também utilizados neste sistema.

II.1.2. Separador Gás-Líquido

O separador gás-líquido por varredura⁽⁴⁰⁾ foi confeccionado em acrílico, com 6 cm de altura e 1 cm de diâmetro interno, contendo uma placa porosa de vidro, que atua como uma membrana filtrante, separando a arsina gerada do meio reacional líquido. Neste separador os orifícios de entrada da mistura reacional e do descarte posicionam-se na mesma altura, resultando na presença de um volume de residência de 200 μL no interior do separador. A fração líquida é continuamente aspirada pela bomba peristáltica. Na extremidade inferior do separador, um fluxo de N_2 , usado como gás de arraste, com vazão controlada por um regulador de vazão de gás (Teflon® Flowmeter, Cole Parmer), transporta a arsina até o atomizador.

II.1.3. Atomizador Eletrotérmico ^(39,40)

O atomizador utilizado foi confeccionado em quartzo, contendo dois tubos conectados na forma de um "T", com câmara de atomização de 17 cm de comprimento e 8 mm de diâmetro interno e câmara de introdução de 10 cm de comprimento por 2 mm de diâmetro interno. A câmara de atomização foi recoberta com dois metros de um fio de Ni-Cr nº25 (8,4 Ω /m; diâmetro de 0,45 mm), o qual atua como resistência elétrica. Sobre esta resistência enrolou-se um fio de amianto para isolamento térmico. Uma capa de alumínio envolve o atomizador, a fim de fornecer temperaturas mais elevadas e minimizar as trocas de calor com o ambiente. As extremidades da resistência de Ni-Cr foram conectadas ao regulador de voltagem tipo Varivolt.

O tratamento e limpeza do atomizador deve ser realizado sempre que não ocorre mais repetibilidade do sinal analítico, uma vez que a superfície tem um papel importante no mecanismo de atomização. Lava-se com ácido fluorídrico 1:10 (v/v) por 15 minutos e, a seguir, com água desionizada.. Seca-se em estufa, a aproximadamente 100°C, e preenche-se o atomizador com solução silanizante, diclorodimetil-silano 5 % (v/v) em tolueno, e mantém-se o atomizador preenchido com esta solução por 4 horas. A seguir, seca-se em estufa por 2 horas, a 110 °C, passando posteriormente um fluxo de nitrogênio gasoso. Este tratamento evita a presença de sítios ativos, que catalisam a recombinação dos radicais hidrogênio e dos radicais hidroxila durante o mecanismo de atomização.

II.1.4. Calibração do Atomizador

De acordo com a literatura, a arsina sofre atomização a uma temperatura de 900 °C. Como o atomizador empregado neste estudo é confeccionado manualmente, é necessário calibrá-lo. Para tal, as extremidades do fio de Ni-Cr foram conectadas ao regulador de voltagem Varivolt e, com o auxílio de um pirômetro Cr-Al (Engro, modelo 455L), a temperatura no interior da câmara de

atomização foi medida em diferentes posições a partir do ponto central do atomizador (conexão do T), na presença da capa de alumínio, verificando-se a variação da temperatura no interior da câmara, à medida que a tensão no Varivolt foi sendo modificada.

II.1.5. Sistema de Detecção

Foi utilizado um Espectrômetro de Absorção Atômica Intralab, modelo Gemini AA 12/1475 (VARIAN), equipado com lâmpada de cátodo ôco de arsênio e lâmpada de deutério como corretor de fundo. O comprimento de onda selecionado para a determinação de arsênio é 193,7 nm e a corrente máxima para operação da lâmpada é 10 mA e fenda com abertura espectral de 0,2 nm. Os sinais foram registrados em altura de pico com uma impressora Epson LX-800.

II.1.6. Digestores das Amostras

Forno de microondas QCI, modelo Qwave-3000 (QUESTRON, Mississauga, Canadá) com potência nominal de 1200 W, equipado com um sensor de pressão e temperatura e um magnetron de 2450 MHz;

Forno de microondas, DGT-100 plus (PROVETTO ANALÍTICA, Brasil), com potência máxima efetiva de 700 W.

Mufla, Thermolyne (USA), programável com sensor automático de temperatura x tempo, fornecida pela AGM Labor Comércio e Representações LTDA.

II.1.7. Sistema de Injeção em Fluxo para a Determinação de Arsênio

A configuração empregada (Figura II.1) é a de *merging zones*, ou seja, zonas coalescentes em confluência, na qual volumes definidos da amostra acidificada e do reagente redutor, NaBH_4 em meio alcalino, são injetados simultaneamente em dois fluxos carregadores constituídos de água desionizada e ácido clorídrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, fluindo a uma mesma vazão, a fim de permitir a homogeneização das soluções. A arsina é formada na bobina de reação, é bombeada ao separador gás-líquido e, com o auxílio de um fluxo de nitrogênio, é transportada ao atomizador, alinhado no caminho óptico do espectrômetro. A fração líquida presente no separador e a solução da amostra não utilizada são continuamente bombeadas para o descarte e coletadas em recipientes separados, para posterior tratamento e descarte (Anexo VI.1).

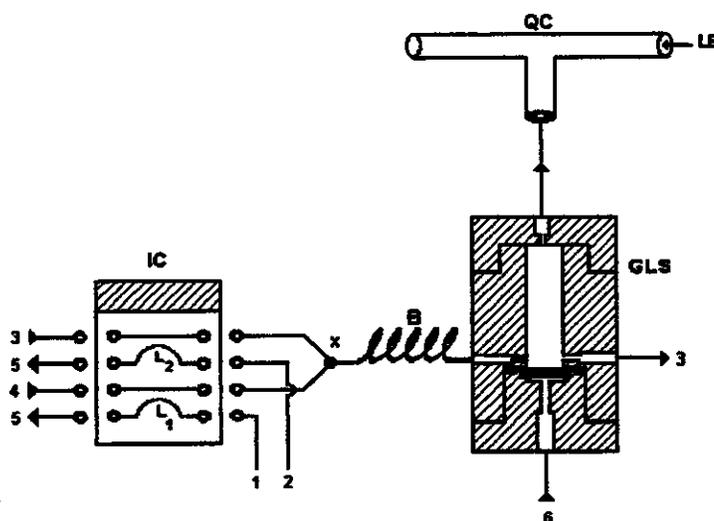


Figura II. 1- Configuração do sistema FIA-HG-AAS empregado na determinação de As.

1- amostra (vazão = $2,8 \text{ mL min}^{-1}$); 2- solução de BH_4^{-1} (1%) em KOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (vazão = $2,5 \text{ mL min}^{-1}$); 3- água desionizada; 4- solução de HCl ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$); vazão dos carregadores = $3,0 \text{ mL min}^{-1}$; 5- descarte; 6- gás N_2 ; IC - injetor; L_1 e L_2 - alça de amostragem da amostra e de BH_4^{-1} respectivamente ($150 \mu\text{L}$); X- ponto de confluência; B- bobina de reação (30 cm); GLS - separador gás-líquido; GF- fluxo de gás N_2 (90 mL min^{-1}); QC - cela de atomização; LB - caminho óptico.

II.1.8. Sistema em Fluxo Empregado na Etapa de Pré-concentração de Arsênio

A configuração do sistema FIA empregado na etapa de pré-concentração do As (Figura II.2.) foi proveniente de modificações do sistema FIA descrito na Figura II.1 e consiste do acoplamento de uma minicoluna no injetor comutador. O procedimento para a pré-concentração é efetuado da seguinte maneira:

Inicialmente, o injetor é comutado para a posição de condicionamento da resina de troca aniônica contida na mini-coluna. Para o condicionamento da resina, água desionizada e a solução tampão $B_4O_7^{-2}$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 9,2, são introduzidas alternadamente por 15 segundos cada uma, num total de 1 minuto. Fecha-se a torneira para a posição 2. Nesta mesma posição do injetor, inicia-se a pré-concentração: a amostra tamponada em pH 9,3-9,5 (contendo As na forma de AsO_3^{-3} para As(III) e/ou $HAsO_4^{-2}$ para As(V)) é introduzida na mini-coluna utilizando-se uma vazão adequada para que a retenção ocorra. Decorrido o tempo necessário para a pré-concentração, a coluna é lavada com a solução tampão por 12-15 segundos. A seguir, o injetor é comutado para a posição de eluição, na qual HCl $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ arrasta os ânions eluídos até a alça de amostragem, preenchendo-a, ao mesmo tempo em que o $NaBH_4$ preenche a outra alça; o tempo gasto para a eluição e o preenchimento da alça de amostragem é de 7 segundos. Com a comutação do injetor novamente para a posição de pré-concentração (mesma posição de introdução da amostra no sistema em fluxo), a amostra eluída e o $NaBH_4$ são introduzidos nos respectivos carregadores do sistema FIA. O eluente selecionado também é utilizado para regenerar a resina. Um novo ciclo de pré-concentração inicia-se, lavando-se e condicionando-se novamente a coluna.

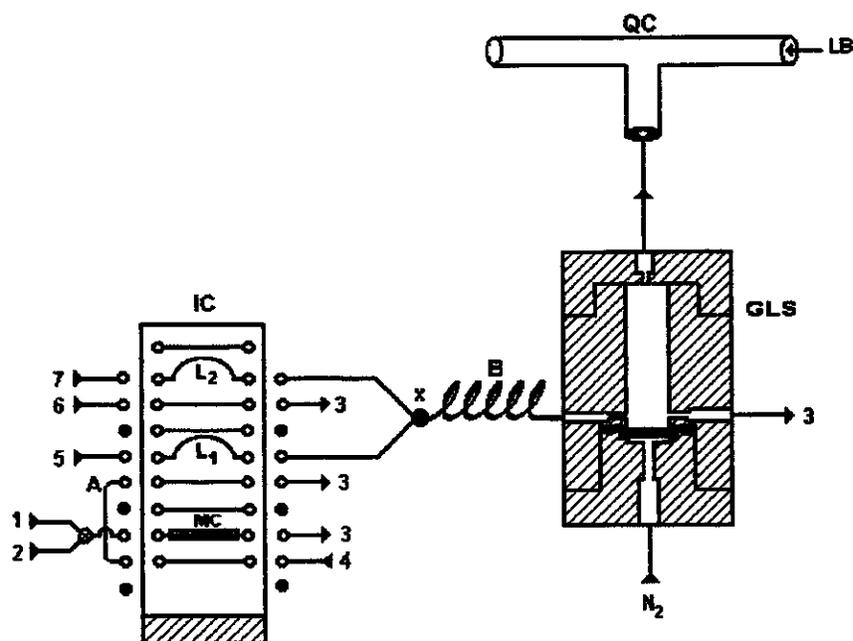


Figura II.2 - Configuração do sistema FIA-HG-AAS utilizada para a pré-concentração de arsênio. (Posição do injetor = pré-concentração)

1-água desionizada e/ou amostra (vazão = 3,2 mL min⁻¹); 2-solução tampão B₄O₇⁻² 0,01 mol L⁻¹, pH 9,2 (vazão = 3,2 mL min⁻¹); 3- descarte; 4- eluente: solução de HCl 1,5 mol L⁻¹; 5 e 7- carregadores: HCl 1,0 mol L⁻¹ e água, respectivamente (3,0 mL min⁻¹); 6- solução de BH₄⁻¹ 1% (vazão = 2,5 mL min⁻¹); ⊗- torneira; IC - injetor, L₁ e L₂ - alça de amostragem da amostra e de BH₄⁻¹, respectivamente (150μL); X - ponto de confluência; B - bobina de reação (30 cm); GLS - separador gás-líquido; QC - cela de atomização; GF- fluxo de gás N₂ (90 mL min⁻¹); LB - caminho ótico; A= alça de 3 cm.

II.2. Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico (Merck, Vetec e Carlo Erba) e água desionizada de alta pureza (18,2 Ωcm), purificada através do sistema Milli-Q (Millipore, USA). A vidraria utilizada e os

frascos de polietileno empregados para armazenar as soluções foram previamente limpos por imersão em HNO_3 10% (v/v), num período mínimo de 24 horas, sendo posteriormente lavados com água desionizada.

II.2.1. Solução Padrão de Arsênio

Uma solução de As(III) 1004 mg L^{-1} foi preparada a partir do óxido As_2O_3 (99,95 %, Carlo Erba) em 25 mL de NaOH 20 % (m/v) seguida da adição de 2 gotas de fenolftaleína e neutralização com HCl 20 % (v/v). O volume final foi elevado a 1000 mL usando HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Estocou-se esta solução em frasco de polietileno e sob refrigeração. As soluções de trabalho foram preparadas diariamente por diluição de uma solução padrão As(III) 1 mg L^{-1} com HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando-se micropipeta Eppendorf®.

II.2.2. Outras Soluções Empregadas no Trabalho

A solução de borohidreto de sódio 1,0 % (m/v) (NaBH_4 , Vetec) foi preparada em KOH (Merck) $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Essa solução, quando armazenada em frasco de polietileno e estocada sob refrigeração, permanece estável por 15 dias.

As soluções de ácido clorídrico foram preparadas a partir do ácido concentrado (37 % e $d=1,19 \text{ g/mL}$, Merck) em 1000 mL de água desionizada, a fim de se obter concentração final de 5,0; 3,0; 1,5; 1,0 e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

O efeito dos íons interferentes foi investigado a partir das soluções estoque de 1000 e $5000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, preparadas a partir dos nitratos metálicos, dissolvidos em água desionizada. As soluções empregadas nos estudos de interferência foram preparadas por diluição das soluções estoques, utilizando micropipeta Eppendorf®, em ácido clorídrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ ou em água desionizada.

Como reagentes mascarantes utilizaram-se as seguintes soluções:

- tiouréia 0,1 a 2 % (m/v) preparadas em HCl 1,0 mol L⁻¹
- L-cisteína 0,1 % e 0,5 % (m/v) preparadas em HCl 0,1 e 1,0 mol L⁻¹
- KI 3 %, 5 % e 10 % (m/v) preparadas em HCl 1,0 mol L⁻¹

Também testou-se a adição do mascarante na *forma sólida*. Assim, foram adicionadas às soluções das amostras preparadas em HCl 1,0 ou 5,0 mol L⁻¹, misturas de KI/ ácido ascórbico (Merck) (0,5/1); (1:0,5); (1:1,5); (2:1); (3/0,5) e (5/0,5) % (m/v).

Ácido nítrico concentrado (65 %, Merck), peróxido de hidrogênio, Perhidrol® (30 %, Merck) e ácido fluorídrico (40 %, Merck) foram empregados em alguns procedimentos de mineralização ácida das amostras. Nitrato de magnésio hexa-hidratado, Mg(NO₃)₂.6H₂O (99,5 %, Merck) foi utilizado no procedimento de calcinação em mufla.

II.2.3. Reagentes Empregados na Pré-concentração de Arsênio

Resina de troca aniônica Dowex® 1X8 (Aldrich Chem. Co.), fortemente básica, na forma cloreto, com 8 % de ligações cruzadas e 100-200 mesh. Antes do uso a resina foi mantida, por 48 horas, em água desionizada.

Borato de sódio deca-hidratado, Na₂B₄O₇.10H₂O, 99,5 % de pureza (Across), empregado no preparo da solução tampão 0,01 mol L⁻¹, pH 9,2 para o condicionamento da coluna de pré-concentração e também no preparo das amostras submetidas à pré-concentração.

II.2.3.1. Mini-coluna para a Pré-concentração de Arsênio

A mini-coluna empregada na etapa de pré-concentração foi preparada utilizando-se um tubo de vidro de 3,5 cm de comprimento com $\Phi = 3$ mm,

contendo lã de vidro nas extremidades. A quantidade de resina de troca aniônica para o preenchimento da mini-coluna, como uma suspensão, foi de 0,4 mL que corresponde a aproximadamente 50 mg de resina seca.

II.2.4. Outros Estudos para a Pré-concentração de Arsênio

II.2.4.1. Suportes Sólidos Testados

Alumina neutra e ácida;

Resina Amberlyst A-26 macroporosa, catiônica;

Cartucho de $\text{SiO}_2\text{-C}_{18}$ empregados em cromatografia;

Sílica-gel, forma ácida.

II.2.4.2. Suportes Sólidos Modificados com Reagentes Complexantes

Resina Amberlyst A-26-Morfolinaditiocarbamato de amônio (NH_4MDTC -Amberlyst) com 6 % (m/v) de impregnação do reagente complexante;

SiO_2 -8-hidroxiquinolina (8-HQ- SiO_2) com 3 % (m/v) de impregnação;

II.2.4.3. Reagentes Complexantes

Morfolinaditiocarbamato de amônio (NH_4MDTC) 0,05; 0,1 e 1 %, preparadas em soluções aquosas por diluição da massa pesada, ou em solução tampão $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ pH 8;

8-hidroxiquinolina (8-HQ) 0,01; 0,02 e 0,05 %, preparadas em solução de acetato de amônio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$;

Dietilditiocarbamato de sódio (NaDDTC) 0,05 e 1 %, preparadas em solução NH_3/HAc pH=9.

II.2.4.4. Eluente

Solução de HCl em diferentes concentrações (mol L^{-1}).

II.2.4.5. Soluções Empregadas

- Soluções de As(III) em diferentes condições de acidez (em pH ácido, neutro e básico), preparadas por diluição da solução padrão de As(III);
- Solução de acetato de amônio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, preparada pela dissolução do sal em água desionizada;
- Solução tampão $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ pH 8, preparada pela adição de 0,5 mL de NH_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ e de 9,5 mL de NH_4Cl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, diluídas a 100 mL com água desionizada;
- Solução NH_3/HAc pH 9, preparada a partir de NH_3 $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ e de HAc $0,03 \text{ mol L}^{-1}$ empregada para solubilizar o NaDDTC.

II.3. Estudo das Variáveis do Sistema FIA-HG

Para avaliar os parâmetros que afetam a formação e a atomização da arsina, empregou-se o método univariado analisando-se o efeito dos seguintes parâmetros:

→ No sistema de injeção em fluxo:

- volume de amostra e reagente redutor
- comprimento da bobina de reação
- vazão dos carregadores
- concentração de ácido clorídrico e de agente redutor NaBH_4

→ Na atomização da arsina:

- vazão do gás de arraste
- temperatura de atomização

Por este método, à medida que cada variável foi sendo otimizada, a mesma foi adotada para a avaliação dos outros parâmetros, até que todos fossem avaliados individualmente.

A fim de avaliar se existe uma dependência entre as variáveis do sistema FIA, empregou-se também o método multivariado, no qual analisou-se o efeito dos parâmetros que afetam o processo de geração da arsina. Neste estudo, foi realizado um planejamento fatorial fracionário 2^{6-1} para verificar a contribuição dos seguintes parâmetros:

- volume de amostra e reagente redutor
- comprimento da bobina de reação
- vazão dos carregadores
- concentração de arsênio
- concentração de ácido clorídrico
- concentração do agente redutor NaBH_4

Selecionados os parâmetros, efetuou-se um novo planejamento fatorial 3^3 , a fim de encontrar os valores ótimos dos parâmetros influentes. Os resultados obtidos foram interpretados por um programa computacional desenvolvido em linguagem MATLAB.

No sistema FIA para pré-concentração de As, as variáveis que afetam diretamente a pré-concentração e eluição do As foram otimizadas pelo método univariado. Neste caso, as variáveis já otimizadas para o sistema FIA-HG-AAS sem a etapa de pré-concentração foram mantidas. As variáveis envolvidas no sistema para pré-concentração e eluição do As são:

- quantidade de resina de troca aniônica na mini-coluna
- vazão e tempo de pré-concentração
- vazão e tempo de eluição
- concentração do eluente
- durabilidade da resina de troca aniônica

II.4. Amostras

De acordo com os objetivos deste trabalho, foi feita a determinação de As em amostras alimentícias e ambientais. Desta maneira, foi necessário proceder um tratamento para cada amostra, em função de suas particularidades. Para todas as amostras analisadas foi feita uma “prova em branco”, processada nas mesmas condições da amostra. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

II.4.1. Café em Grãos

Um amplo estudo sobre a avaliação de seis diferentes procedimentos para a mineralização de amostras de café solúvel na determinação de contaminantes e nutrientes foi documentado por Santos e Oliveira.⁽¹²⁶⁾ Entretanto, neste trabalho foi empregado um procedimento alternativo, uma vez que as amostras foram preparadas e cedidas pelo ITAL-Campinas. Estas amostras foram utilizadas para avaliar a eficiência da mescla redutora/mascarante empregada.

Pesou-se 2 ($\pm 0,0001$) gramas de café torrado e triturado, em béquer Pyrex[®], enriqueceu-se as amostras com a solução de As(III), de forma a obter uma concentração final de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Procedeu-se a calcinação em mufla (T máx. = 450 °C) empregando cerca de 4 g de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 10 mL de HNO_3 concentrado, como indicado na metodologia de referência.⁽¹⁰⁶⁾ As cinzas foram solubilizadas com HCl 20 % (v/v) seguida da adição de 1 mL de uma solução de KI 40 % (m/v). Em outro ensaio as amostras submetidas ao mesmo procedimento de mineralização resultou em cinzas brancas, as quais foram solubilizadas e diluídas em HCl 40 % (v/v) (5,0 mol L^{-1}) seguidas da adição de KI-ácido ascórbico (0,5:1,0 %; m/v). Decorridas aproximadamente 3 horas, as amostras foram introduzidas no sistema de análise.

II.4.2. Peixe de Água Doce

Amostras de peixes liofilizadas foram submetidas a tratamento de calcinação em mufla, segundo modificação do procedimento descrito por Lebland e Jackson.⁽¹⁰⁸⁾ Pesou-se a massa correspondente indicada na Tabela II.1. em um béquer Pyrex[®] de 150 mL. A cada béquer adicionou-se 4 g de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ e 10 mL de HNO_3 concentrado e procedeu-se o aquecimento em chapa elétrica, cuidadosamente, até secura completa, a fim de se eliminar os vapores castanhos de NO_2 . O béquer foi transferido para uma mufla aumentando-se a temperatura de 50 em 50 °C, a cada 30 minutos, até que fosse atingida a temperatura de 450 °C, a qual foi mantida até que as cinzas se tornassem brancas ou levemente acinzentadas. O tempo de permanência na mufla foi de 5 a 6 horas. Após o resfriamento, as cinzas foram umedecidas com água desionizada e diluídas com HCl 5,0 mol L^{-1} . A solução foi transferida para um balão volumétrico de 50,0 mL, ao qual adicionou-se KI-ácido ascórbico (2:2,5 %, m/v); completou-se o volume com HCl 5,0 mol L^{-1} . As medidas de absorvância das soluções analisadas foram feitas contra uma curva de calibração com soluções aquosas de As(III) preparadas em HCl 5,0 mol L^{-1} com KI-ácido ascórbico (2:2,5 %, m/v).

Tabela II.1- Massa e fator de diluição empregados para as amostras de peixe.

No.	Amostra	Massa pesada ($\pm 0,0001g$)	Fator de diluição
1	Tilápia1	0,5	100
2	Pacu 1	3	16
3	Pacu 2	3	16
4	Tilápia 2	0,5	100
5	Tilápia 3	0,5	100
6	Carpa	2,5	20
7	Tilápia 4	0,5	100**
8	Pacu 3	0,5	100

**A amostra codificada com o número (7) necessitou ser diluída mais uma vez. Assim sendo, 10,0 mL da solução contendo a amostra foi transferida para um balão de 50,0 mL e avolumada com HCl 5,0 mol L^{-1} , para posterior determinação.

II.4.3. Suco de Fruta Industrializado

Amostras de diferentes sucos industrializados, de caju, de maçã, de maracujá e de uva, enriquecidas com solução padrão de As(III) de forma a obter soluções com concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$, foram introduzidas diretamente no sistema de análise.

Em outro procedimento, 5,00 mL das amostras foram enriquecidas com arsênio. A estas foram adicionados HCl $5,0 \text{ mol L}^{-1}$ e a mescla redutora KI-ácido ascórbico (0,5:1 %, m/v); o volume foi completado para 10,0 mL com o ácido e a solução foi introduzida no sistema de análise.

II.4.4. Vinhos

II.4.4.1. Pré-tratamento das Amostras

Alíquotas de 5,00 mL das amostras de vinho foram enriquecidas com quantidades conhecidas de uma solução padrão de As(III) de forma a obter uma concentração final de 20 e $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III).

II.4.4.2. Introdução Direta no Sistema de Análise com e sem o Procedimento de Evaporação em Chapa

Para a introdução direta das amostras foram utilizados dois procedimentos:

a) Amostras preparadas como em II.4.4.1. foram avolumadas para 25,0 mL e introduzidas diretamente no sistema de análise ;

b) As amostras preparadas como descrito em II.4.4.1 foram colocadas em béquer de 50 mL e submetidas a evaporação em chapa elétrica, mantendo-se a

temperatura em 80 °C, para a evaporação de etanol, até um volume final aproximado de 3-5 mL. Posteriormente, foram transferidas para balão volumétrico de 25,0 mL com HCl 5,0 mol L⁻¹, seguido da adição de KI-ácido ascórbico (0,5:1 %, m/v) e, então, submetidas à análise.

II.4.4.3. Mineralização Ácida em Forno de Microondas

As amostras preparadas como em II.4.4.1. foram submetidas à mineralização ácida em forno de microondas fechado (Questron, Qwave-3000). Adicionou-se aos 5,00 mL da amostra 10 mL de HNO₃ concentrado e, após o início da reação de mineralização (≅ 40 minutos), os frascos de Teflon[®] foram introduzidos no forno empregando-se o programa de digestão sugerido pelo fabricante: tempo = 10 minutos, Temperatura = 190°C, pressão limite = 300 psi e potência = 623 W. A seguir, as soluções foram transferidas para béqueres de 50 mL, cobertas com vidro de relógio, e evaporadas até quase secura em chapa elétrica com temperatura controlada em aproximadamente 80 °C, para eliminar os vapores de HNO₃. Após resfriamento, adicionou-se 5 mL de HCl concentrado e evaporou-se novamente até quase secura. As amostras foram retomadas em HCl 5,0 mol L⁻¹ e transferidas para balões de 10,0 mL aos quais adicionou-se KI-ácido ascórbico (1:2 %, m/v). Após 30 minutos as soluções das amostras foram submetidas à análise. O teor de As nas amostras de vinho foi determinado contra uma curva de calibração preparada em HCl 5,0 mol L⁻¹ com KI-ácido ascórbico.

II.4.5. Água Mineral

As amostras de três diferentes fornecedores comerciais de água mineral (A, B, C), foram transferidas para balões volumétricos de 10,0 mL e enriquecidas

com solução padrão de As(III), de forma a obter soluções com concentração igual a $20 \mu\text{g L}^{-1}$. A seguir, foram introduzidas diretamente no sistema de análise.

Para os ensaios de pré-concentração as amostras de água mineral de dois fornecedores (A e B) foram introduzidas no sistema de pré-concentração. Em um béquer adicionou-se cerca de 70 mL de amostra e 10 mL do tampão $\text{B}_4\text{O}_7^{-2}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ajustou-se o pH a 9,5. Transferiu-se a solução para um balão de 100,0 mL, avolumando-o com a amostra. Em outro procedimento, essas amostras foram enriquecidas com solução de As(III), obtendo-se uma concentração final de $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$. A seguir, adicionou-se 10 mL de solução tampão de $\text{B}_4\text{O}_7^{-2}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ajustou-se o pH para 9,5, avolumando-se o balão de 100,0 mL com a amostra.

II.4.6. Água de Superfície e Água Subterrânea

a) Aproximadamente 50 mL de água dos rios Atibaia (SP), Capivari (SP) e Pretinho (AM), foram filtradas repetidas vezes, com membrana porosa de $0,45 \mu\text{m}$, até que não mais se observasse a presença de partículas em suspensão, e coletadas em balões volumétricos de 10,0 mL, aos quais se adicionaram respectivamente, volumes conhecidos da solução estoque de As(III), de forma a obter a concentração final igual a 12; 18; 22 e $28 \mu\text{g L}^{-1}$.

b) Amostras de água do Rio do Carmo (superfície), da Bica do Padre Faria (subterrânea, de nascente) e da Mina Chico Rei (subterrânea, de mina), provenientes da região de Ouro Preto (MG), foram filtradas com membrana porosa de $0,45 \mu\text{m}$, acidificadas com HNO_3 (0,02 %, v/v) no local da coleta e, guardadas sob refrigeração, a $15 \text{ }^\circ\text{C}$.

Uma alíquota de 15,00 mL de água do Rio do Carmo foi adicionada a um balão volumétrico de 25,0 mL, seguida da adição de 9 mL de HCl concentrado e KI-ácido ascórbico 0,5:1 %, (m/v), e avolumada com água desionizada. Decorridos 30 minutos, a solução foi analisada. Para as amostras de água da Mina Chico Rei e da Bica do Padre Faria, uma alíquota de 2,50 mL foi colocada em um balão volumétrico de 25,0 mL, o procedimento acima foi efetuado.

c) Para o procedimento de pré-concentração, foram analisadas as amostras de água do Rio do Carmo e uma amostra de água de galeria da Mina da Passagem. Assim, 10,00 mL da amostra de água do Rio do Carmo foram transferidos para balão volumétrico de 100,0 mL seguidos da adição de 10 mL de solução tampão $B_4O_7^{-2}$ $0,1\text{mol L}^{-1}$, com ajuste do pH para 9,5. O balão foi avolumado com água desionizada. Para a água de galeria, 50,00 mL de amostra foram colocadas em um béquer de 150 mL seguida da adição de 1 mL de solução tampão $B_4O_7^{-2}$ 1mol L^{-1} , e o pH ajustado para 9,5. A seguir, esta solução foi transferida para um balão de 100,0 mL, completando-se o volume com a amostra.

II.4.7. Material de Referência Certificado

A exatidão do método foi verificada pela análise dos materiais certificados de referência *Oyster Tissue* SRM 1566^a (NIST), *Cod Muscle* CRM 422 e *River Sediment* CRM 320. Todos os procedimentos foram realizados em quadruplicata. ***Oyster tissue*** ⇒ Procedimento 1. Pesou-se 0,25 ($\pm 0,0001$) g e adicionou-se 10 mL de HNO_3 e 2 mL de H_2O_2 30 % (v/v) nos frascos de Ostafilon[®] apropriados. As amostras foram submetidas à mineralização ácida em forno de microondas (DGTplus, Provecto Analítica) obedecendo o programa de operação potência x tempo sendo; 1^a etapa = 15 min, 300W; 2^a etapa = 5min, 550W e 3^a etapa = 5min, 0W. O programa de operação foi realizado 2 vezes. A seguir, as amostras resfriadas foram transferidas para béqueres de 50 mL cobertos com vidro de relógio e evaporadas em chapa de aquecimento a 80 °C até quase secura, para eliminar os vapores de ácido, e retomadas com 5 mL de HCl diluído, evaporadas novamente, diluídas em 10 mL de HCl $5,0\text{ mol L}^{-1}$ e filtradas em papel de filtro Whatman 42, sendo então coletados em balões volumétricos de 25,0 mL. Os balões foram avolumados com HCl $1,0\text{ mol L}^{-1}$. Para a determinação de arsênio, 2,00 mL das soluções foram transferidas para balões volumétricos de 10,0 mL, seguido da adição de KI-ácido ascórbico (2,5:5 % m/v), e posteriormente avolumadas a 10,0 mL com HCl $5,0\text{ mol L}^{-1}$.

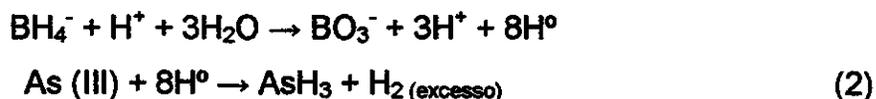
⇒ Procedimento 2. 0,25 ($\pm 0,0001$) g do material foram pesados em béqueres Pyrex[®] juntamente com 2,5 g de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. A seguir, adicionaram-se 4 mL de HNO_3 concentrado e levou-se ao aquecimento controlado até a secura em chapa elétrica, até não mais se observar o desprendimento dos vapores de NO_2 . Os béqueres foram transferidos para uma mufla com temperatura inicial de 250 °C, sendo a temperatura aumentada em 50 °C a cada 30 minutos, até 450 °C, permanecendo nesta temperatura por 3 horas, obtendo-se ao final, cinzas brancas. Após o resfriamento em dessecador, as cinzas foram umedecidas com água desionizada, solubilizadas com HCl 5,0 mol L^{-1} , filtradas em papel de filtro Whatman 42, sendo então coletadas em balões volumétricos de 50,0 mL. Alíquotas de 10,00 mL foram transferidas para balões de 25,0 mL, seguidas da adição de KI-ácido-ascórbico 2:4 % (m/v) e, decorridos pelo menos 30 minutos, foram submetidas à análise.

Cod muscle ⇒ o procedimento de calcinação em mufla, acima descrito foi efetuado, para 0,25 g de amostra e volume final de 50,0 mL. Alíquotas de 5,00 mL foram transferidas para balões de 25,0 mL e avolumados com HCl 5,0 mol L^{-1} , após a adição da mescla redutora KI-ácido ascórbico 2:4 % (m/v).

River Sediment ⇒ 0,25 ($\pm 0,0001$) g foram pesados nos frascos de Teflon[®] e a seguir adicionou-se 5 mL de água régia (3 HCl :1 HNO_3) e 2,5 mL de ácido fluorídrico. As amostras foram submetidas à mineralização em forno de microondas (Qwave-3000, Questron) obedecendo o seguinte programa de mineralização⁽¹⁰⁹⁾ (potência x tempo): 1^ª etapa: 200 W x 3 min; 2^ª etapa: 400 W x 5 min; 3^ª etapa: 600 W x 5 min; 4^ª etapa: 700 W x 20 min e 5^ª etapa: 80 W x 2min, com pressão limite de 350 psi e temperatura limite de 190 °C. Terminado o programa, adicionou-se cerca de 1 grama de ácido bórico. As amostras foram levadas à evaporação em chapa de aquecimento (90 °C), reduzindo o volume até quase a secura. A seguir, foram avolumadas com HCl 1,0 mol L^{-1} a 50,0 mL. Para a determinação de As, 1300 μL desta solução foram transferidos para um balão volumétrico de 25,0 mL. A seguir, KI/ácido ascórbico (2:4) % (m/v) foi adicionado ao balão, avolumando-se com HCl 5,0 mol L^{-1} .

III. RESULTADOS OBTIDOS E DISCUSSÃO

A geração de hidretos fundamenta-se na formação de hidretos covalentes gasosos, os quais permitem a detecção do analito em diferentes formas, tais como arsina, dimetilarsina e monometilarsina. A formação da arsina, AsH_3 , ocorre pela reação entre o NaBH_4 e o As inorgânico presente na amostra, em um meio reacional acidificado necessário para decompor o redutor e gerar os radicais H° , segundo a equação (2):



Assim, a associação das melhores condições para a geração, transporte e atomização da arsina, implicam diretamente no sucesso do procedimento analítico para a determinação de arsênio.

A temperatura de atomização para um determinado hidreto é característica para cada elemento. Sabendo que a temperatura de atomização da arsina ocorre entre 800-1000 °C, foi necessário saber a temperatura no interior da câmara de atomização. O perfil de temperatura obtido neste trabalho é apresentado na Figura III.1, onde se observa uma pequena diminuição no ponto central do atomizador, local da junção entre a câmara de atomização com a câmara de introdução do hidreto gasoso juntamente com o gás de arraste. Distanciando-se do ponto central ocorre um aumento da temperatura, a qual volta a diminuir nas extremidades da câmara de atomização. Quando o Varivolt foi mantido em torno de 100 V (na escala do instrumento) foram obtidas temperaturas adequadas para a atomização da arsina; voltagens superiores a esta podem causar um superaquecimento do fio de Ni-Cr, deixando-o incandescente, provocando sua queima e ruptura. Quando isto ocorre, é necessário uma nova calibração do atomizador. A introdução de um fluxo de N_2 com uma vazão de 100 mL min^{-1} , fornece o mesmo perfil, com uma pequena diminuição da temperatura.⁽³⁹⁾

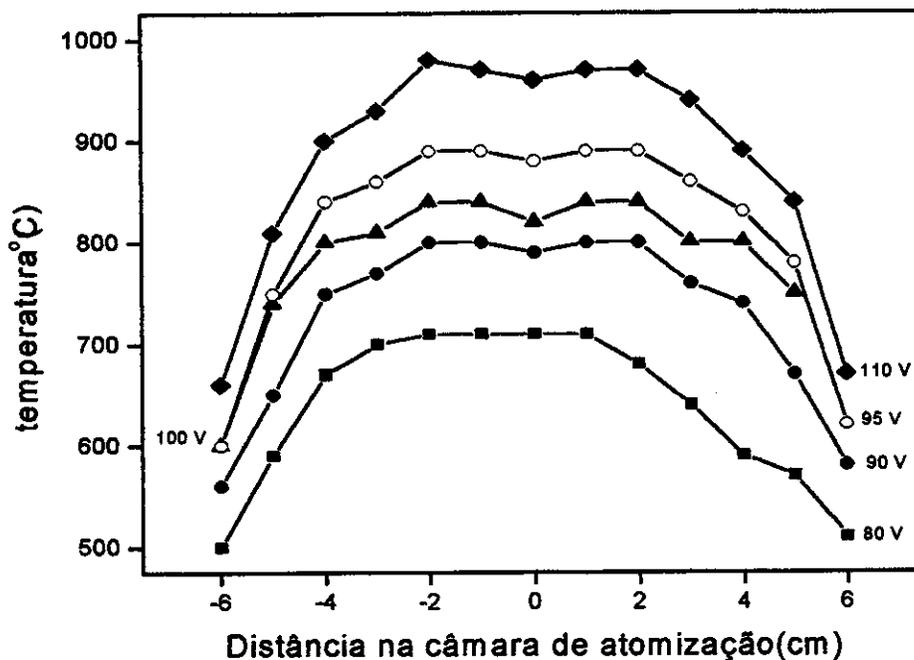


Figura III.1- Variação da temperatura (°C) no interior da câmara de atomização em função da voltagem (V) aplicada à resistência de Ni-Cr, na presença da capa de alumínio.

Os ensaios iniciais para a determinação de As, utilizando temperaturas em torno de 900 °C, foram efetuados com o sistema FIA com zonas coalescentes em confluência, similar ao usado por Cadore⁽³⁹⁾ na determinação de Bi e por Coelho⁽¹⁰⁶⁾ na determinação de Se e as concentrações dos reagentes envolvidos no processo similares aos destacados por Welz.⁽⁴⁵⁾ Os resultados obtidos nos ensaios preliminares mostraram-se promissores quanto à sensibilidade e repetibilidade, sendo esta configuração selecionada para a continuidade do trabalho.

A seguir são apresentados os resultados obtidos visando a otimização dos parâmetros operacionais do sistema proposto que afetam a formação e a atomização da arsina.

III.1. Otimização dos Parâmetros do Sistema FIA-HG

III.1.1. Emprego do Método Univariado

Os estudos de otimização foram efetuados para 3 diferentes concentrações de As(III), (20, 50 e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$), sendo as medidas dos sinais analíticos realizadas, no mínimo, em triplicata.

A condições iniciais utilizadas^(39, 45, 106) foram: carregadores: HCl 1,0 mol L^{-1} e água; reagente redutor: NaBH_4 1,0 % (m/v); vazão de $\text{N}_2 = 180 \text{ mL min}^{-1}$; vazão dos carregadores = 2,5 mL min^{-1} ; e temperatura de atomização = 900 $^\circ\text{C}$.

A acidez do meio reacional é importante para a geração do hidreto e, na presença de soluções de As(III), a formação da arsina ocorre no intervalo até pH 6, enquanto que com As(V) há a necessidade de uma acidez maior, até pH 2. Além disso, a formação da arsina ocorre preferencialmente com As no estado de oxidação mais baixo e os ácidos com poder oxidante podem implicar em um sinal analítico menor. Desta forma, o ácido clorídrico foi selecionado como carregador para a amostra em função de suas propriedades não oxidantes.

III.1.1.1. Efeito do Comprimento da Bobina de Reação

Considerando-se que a arsina é gerada quando a amostra acidificada contendo As, entra em contato com a solução de borohidreto de sódio, o primeiro parâmetro avaliado foi o **comprimento da bobina de reação**, que nos fornece uma idéia do tempo de reação. Foram testadas bobinas com 10, 20, 30, 40, 60 e 80 cm (enroladas em tubos plásticos de 1 cm de diâmetro), quando eram introduzidos no sistema volumes de amostra e de NaBH_4 de 50, 75, 100, 150, e 200 μL . A Figura III.2 mostra o efeito do comprimento da bobina de reação para a

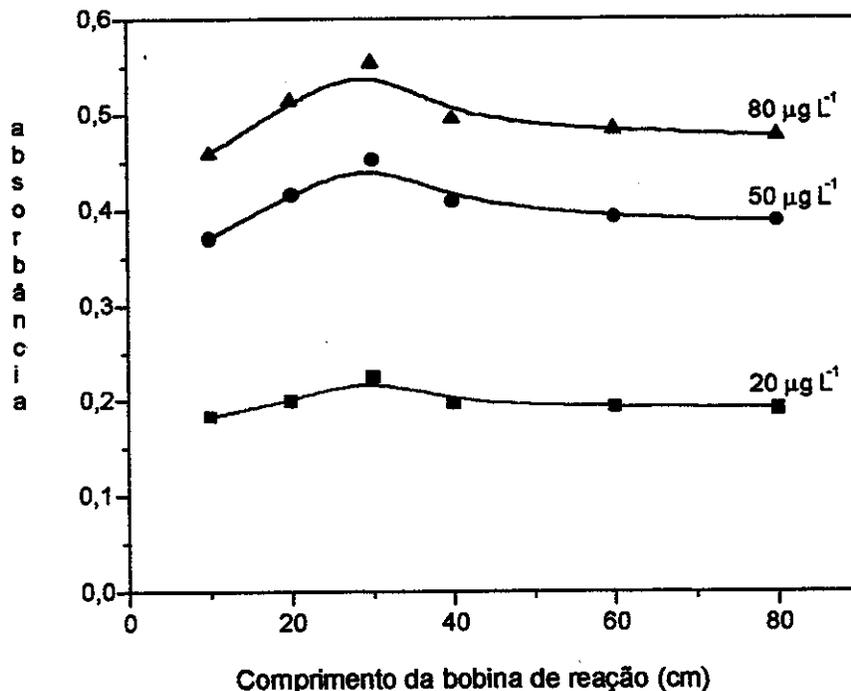


Figura III.2 - Efeito do comprimento da bobina de reação na determinação de As.
 Condições: $[\text{HCl}] = 1,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{BH}_4^{-}] = 1,0 \%$; volume de injeção = $200 \mu\text{L}$;
 vazão dos carregadores = $2,5 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do $\text{N}_2 = 180 \text{ mL min}^{-1}$
 $T_{\text{atom}} = 900 \text{ }^\circ\text{C}$; $\lambda_{\text{As}} = 193,7 \text{ nm}$.

introdução de $200 \mu\text{L}$ de solução do analito e do reagente redutor. Observa-se que o comprimento da bobina de reação não afeta significativamente o sinal analítico, especialmente para baixas concentrações, mostrando que a arsina é cineticamente estável. A estabilidade está associada à energia de ligação H-As, que é de 60 kcal mol^{-1} , superior à de outros hidretos, como por exemplo a bismutina, BiH_3 , que é bastante instável.⁽¹¹⁾ Além disso, de acordo com Welz,⁽⁴⁵⁾ quando a determinação de As ocorre com a espécie no menor estado de oxidação, o tempo de reação, não é um parâmetro crítico.

Neste estudo, os melhores sinais analíticos, em termos de sensibilidade e de repetibilidade, para todos volumes testados, foram obtidos com a bobina de 30 cm de comprimento, a qual foi selecionada para continuidade do trabalho.

Caminhos de reação mais longos (como com a bobina de 200 cm) resultaram em um menor sinal analítico que, de acordo com Welz,⁽⁴⁵⁾ podem potencializar efeitos de interferência, especialmente de metais de transição.

III.1.1.2. Efeito do Volume de NaBH_4 e da Amostra Injetados

O efeito da introdução de 50, 75, 100, 150, e 200 μL de amostra e de redutor, no sistema em estudo, foram avaliados (Figura III.3). Observa-se que os sinais analíticos aumentam com o volume de injeção, até 150 μL , que foi selecionado para a continuidade do trabalho, em razão de um aumento mais significativo no sinal, principalmente quando se deseja determinar baixas concentrações de arsênio, sem afetar a frequência analítica.

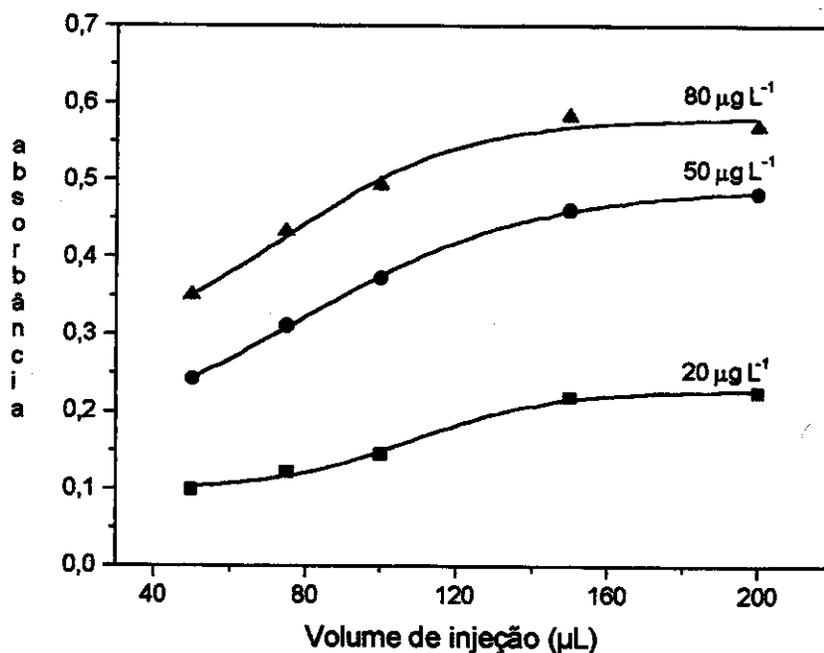


Figura III.3 - Efeito do volume de injeção de amostra e de reagente redutor na determinação de As.

Condições: $[\text{HCl}] = 1,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{BH}_4^{-}] = 1,0 \%$; bobina de reação = 30 cm; vazão dos carregadores = $2,5 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do $\text{N}_2 = 180 \text{ mL min}^{-1}$
 $T_{\text{atom}} = 900 \text{ }^\circ\text{C}$; $\lambda_{\text{As}} = 193,7 \text{ nm}$.

III.1.1.3. Efeito da Concentração do Reagente Redutor, NaBH_4

O efeito de diferentes concentrações de NaBH_4 na sensibilidade do método foi verificado injetando-se um volume constante ($150 \mu\text{L}$) de diferentes concentrações de NaBH_4 , no intervalo entre 0,1 e 2,0 % (m/v), para as soluções de As(III) de $20, 50$ e $80 \mu\text{g L}^{-1}$ como apresentado na Figura III.4. Observou-se um aumento no sinal analítico até a concentração de NaBH_4 igual a 1,0 %, a partir da qual ocorre uma diminuição. A concentração de 1,0 % foi selecionada. Baixas concentrações de borohidreto não favorecem a formação dos radicais hidrogênio em quantidade suficiente para gerar a arsina e, posteriormente, atomizá-la. Por outro lado, concentrações superiores a 1 %, levam a uma excessiva produção de

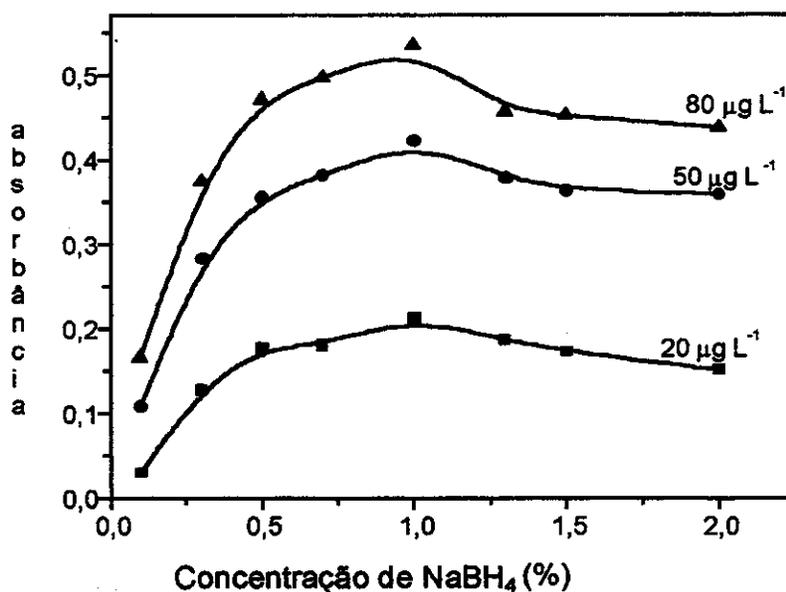


Figura III.4 - Efeito da concentração de NaBH_4 na determinação de As.
Condições: $[\text{HCl}] = 1,0 \text{ mol L}^{-1}$; volume injetado = $150 \mu\text{L}$;
bobina de reação = 30 cm ; vazão dos carregadores = $2,5 \text{ mL min}^{-1}$;
vazão do $\text{N}_2 = 180 \text{ mL min}^{-1}$ e $T_{\text{atom}} = 900 \text{ }^\circ\text{C}$; $\lambda_{\text{As}} = 193,7 \text{ nm}$.

hidrogênio, que acarreta em um elevado sinal de absorção de fundo, aumentando o sinal do branco e diminuindo o sinal analítico, além de diluir a arsina gerada. Para a solução de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III), na presença de uma solução a 3,0 % do redutor, observou-se experimentalmente um sinal equivalente a 50 % daquele obtido quando foi usada uma solução 1,0%, confirmando a afirmação acima.

Estas considerações são válidas quando o arsênio está presente na amostra, na forma de As(III). Na presença de As(V), a concentração de NaBH_4 igual a 3,0 % gerou um sinal analítico correspondente a 90 % do sinal obtido com As(III) e solução 1,0 % de NaBH_4 , ou seja, os mesmos resultados encontrados por Welz ⁽⁴⁵⁾ e por Thompson. ⁽⁷⁰⁾

III.1.1.4. Efeito da Concentração de Ácido Clorídrico no Carregador e na Diluição da Amostra

De acordo com a Figura III.5, não foi observado um efeito significativo na determinação de arsênio, quando a concentração de HCl, usado como carregador da amostra e para o preparo das soluções, foi investigado no intervalo entre 0,25 a $5,0 \text{ mol L}^{-1}$. A concentração de ácido empregada para as amostras foi sempre igual àquela empregada no carregador. A concentração de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi selecionada, ressaltando que a espécie de interesse neste estudo é As(III). O sinal analítico para As(V) foi equivalente à 50 % quando comparado ao sinal obtido com As(III), nas mesmas condições.

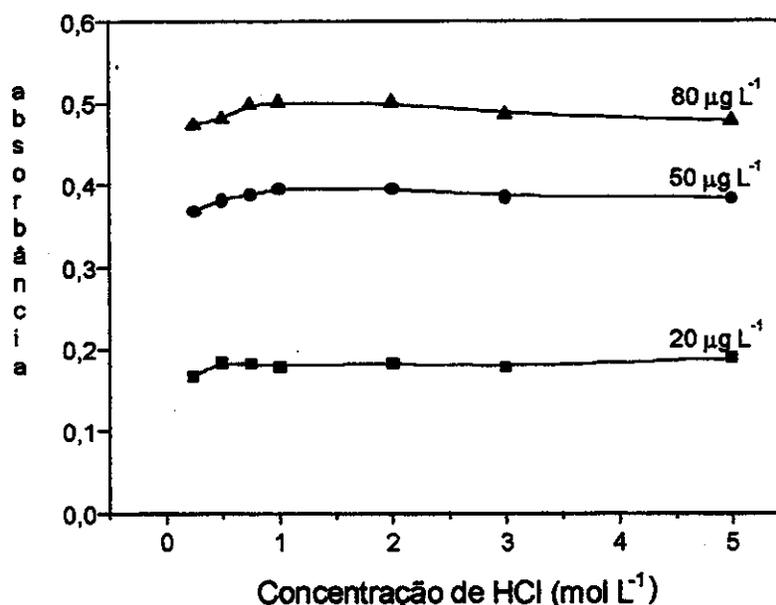


Figura III.5- Efeito da concentração de HCl usado no carregador e na diluição da amostra.

Condições: $[\text{BH}_4^{-}] = 1,0 \%$; volume injetado = $150 \mu\text{L}$;
bobina de reação = 30 cm ; vazão dos carregadores = $2,5 \text{ mL min}^{-1}$;
vazão do $\text{N}_2 = 180 \text{ mL min}^{-1}$ e $T_{\text{atom}} = 900 \text{ }^\circ\text{C}$; $\lambda_{\text{As}} = 193,7 \text{ nm}$.

III.1.1.5. Efeito de Diferentes Ácidos Empregados no Preparo da Amostra

Embora os trabalhos propostos na literatura recomendem o emprego de HCl para acidificar o meio reacional, considerou-se importante avaliar o efeito do ácido nítrico, sulfúrico e perclórico na determinação de As, uma vez que podem ser empregados numa etapa de pré-tratamento da amostra. Os efeitos dos ácidos, testados individualmente e também como uma mescla, no sinal analítico de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III), podem ser verificados na Tabela III.1. De acordo com estes resultados, o HCl foi o que proporcionou o melhor sinal analítico. Ácido sulfúrico, ácido nítrico e ácido perclórico causaram uma diminuição no sinal analítico para

todas as concentrações estudadas, sendo bastante acentuado o efeito dos ácidos nítrico e perclórico. Segundo Pierce e Brown,⁽⁶⁷⁾ o decréscimo na absorvância deve-se ao poder oxidante dos ácidos, que reagem com o agente redutor dificultando a geração da arsina. De acordo com os autores, quanto menor o poder oxidante do ácido, menor é o seu efeito interferente. Assim sendo, um aumento na concentração de borohidreto de sódio seria indicado como uma possível alternativa, mas este procedimento pode causar um elevado sinal de absorção de fundo. Se a amostra for submetida a um pré-tratamento com estes ácidos ou com a mescla de ácidos, fica evidente, pelos resultados obtidos, a necessidade de sua eliminação, antes da determinação de As.

Tabela III.1- Efeito de diferentes ácidos na geração de AsH_3 . (Absorvância normalizada)

Condições: $[BH_4^{-1}] = 1,0 \%$; volume injetado = $150 \mu L$; $T_{atom} = 900 \text{ }^\circ C$
 vazão dos carregadores = $2,5 \text{ mL min}^{-1}$; bobina de reação = 30 cm ;
 vazão do $N_2 = 180 \text{ mL min}^{-1}$ e $[As] = 20 \mu g L^{-1}$ de As(III);
 $[HCl]$ carregador = $1,0 \text{ mol L}^{-1}$

Concentração de ácido (mol L^{-1})	Sinal analítico relativo (%)				Mescla dos ácidos
	HCl	H_2SO_4	HNO_3	$HClO_4$	
0,5	100	82	50	45	33
1,0	100	65	34	-	23
3,0	100	30	20	20	-

III.1.1.6. Efeito da Vazão dos Carregadores

Os carregadores utilizados foram: água para o reagente $NaBH_4$ e HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ para a amostra. O efeito da vazão destes carregadores foi avaliado no intervalo compreendido entre $1,0$ a $4,2 \text{ mL min}^{-1}$. Na Figura III.6 são apresentadas as curvas obtidas neste estudo. A vazão de $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ possibilita uma adequada frequência de injeção (aproximadamente 135 injeções/hora) e eficiência na

drenagem da fase líquida para o descarte. Vazões inferiores a $2,0 \text{ mL min}^{-1}$, forneceram sinais analíticos distorcidos (picos achatados e com caudas longas), devido à dispersão sofrida pelo reagente e amostra durante o transporte até a bobina de reação.

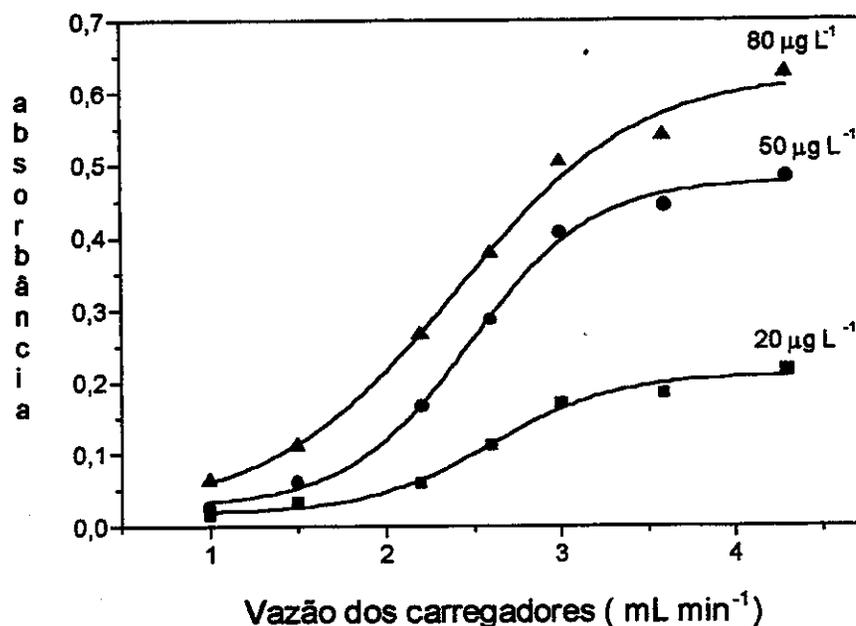


Figura III.6- Efeito da vazão dos carregadores na determinação de As.

Condições: $[\text{HCl}] = 1,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{BH}_4^{-}] = 1,0 \%$; volume injetado = $150 \mu\text{L}$; bobina de reação = 30 cm ; vazão do $\text{N}_2 = 180 \text{ mL min}^{-1}$ e $T_{\text{atom}} = 900 \text{ }^\circ\text{C}$; $\lambda_{\text{As}} = 193,7 \text{ nm}$.

III.1.1.7. Efeito da Vazão do Gás de Arraste

Para a otimização da vazão do gás de arraste estudou-se o intervalo entre 33 e 300 mL min^{-1} (Figura III.7). A vazão selecionada foi de 90 mL min^{-1} em função da sensibilidade obtida, para as três concentrações da solução de As(III) empregadas. Vazões inferiores a 90 mL min^{-1} implicaram em diminuição da

absorbância e ausência de repetibilidade em função dos sinais analíticos distorcidos (sinais largos e achatados), mostrando a ineficiência no processo de separação do hidreto do meio reacional líquido e seu transporte até o atomizador. Vazões muito superiores a 90 mL min^{-1} também resultaram em diminuição dos sinais, possivelmente devido a um excesso de gás nitrogênio, o qual dilui o hidreto gasoso no percurso até o atomizador. O gás escolhido foi nitrogênio, contendo aproximadamente 5% de oxigênio dissolvido.

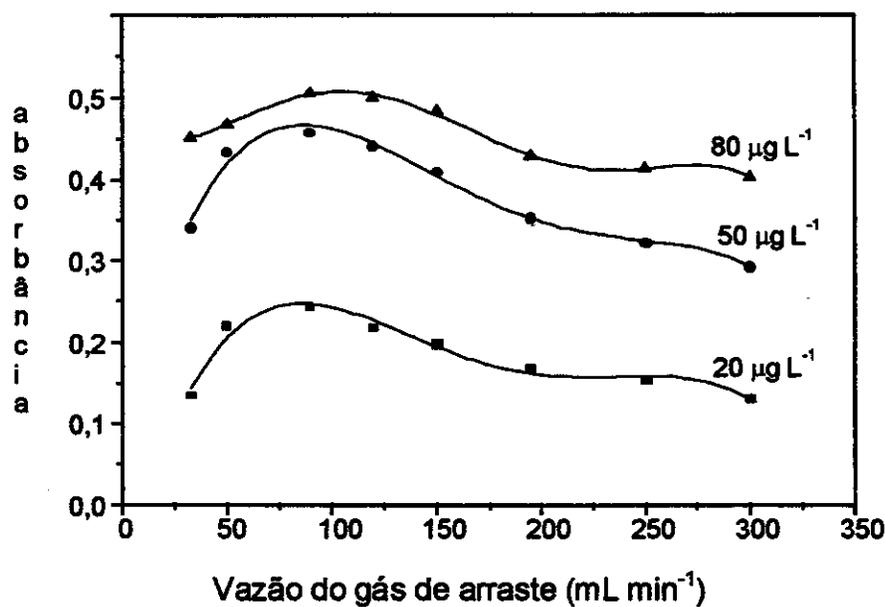


Figura III.7- Efeito da vazão do gás de arraste na determinação de As.

Condições: $[\text{HCl}] = 1,0 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{BH}_4^{-1}] = 1,0 \%$; volume injetado = $150 \mu\text{L}$;
bobina de reação = 30 cm ; vazão de carregadores = $3,0 \text{ mL min}^{-1}$;
 $T_{\text{atom}} = 900 \text{ }^\circ\text{C}$; $\lambda_{\text{As}} = 193,7 \text{ nm}$.

De acordo com a literatura,⁽⁵⁹⁾ a atomização dos hidretos em tubos aquecidos elétrica e externamente ocorre via colisões com radicais hidrogênio, no qual o oxigênio tem um papel importante no mecanismo de atomização a baixas temperaturas, por exemplo, em torno de 800°C . A quantidade de oxigênio

dissolvido no gás carregador parece ter sido suficiente para favorecer os mecanismos de reação que produzem os radicais hidrogênio empregado na atomização, não sendo necessário uso de um gás de arraste 100% puro.

III.1.1.8. Efeito da Temperatura de Atomização

A literatura mostra que a temperatura de atomização da arsina se dá a 900°C, quando um tubo de quartzo é empregado como atomizador. Para o estudo da temperatura de atomização, o intervalo entre 730 e 900 °C foi selecionado e os resultados são apresentados na Figura III.8.

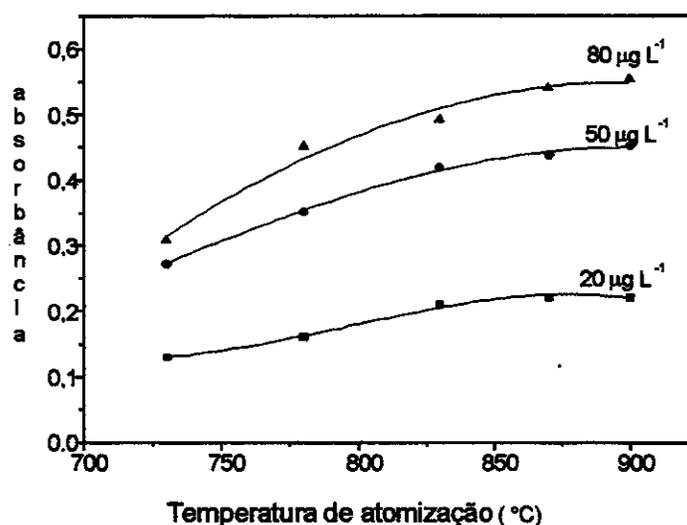


Figura III.8- Efeito da temperatura de atomização da arsina na determinação de As. .
 Condições: [HCl]= 1,0 mol L⁻¹; [BH₄⁻¹]= 1,0 %; volume injetado = 150 µL;
 bobina de reação = 30 cm; vazão dos carregadores = 3,0 mL min⁻¹ ;
 vazão do gás de arraste = 90 mL min⁻¹; λ_{As}= 193,7 nm.

Acima de 730 °C a atomização da AsH₃ ocorre e a sua eficiência aumenta com o aumento da temperatura entre 850-900 °C. Abaixo de 730 °C, obteve-se um

sinal analítico muito pequeno e com um perfil bastante diferente daquele normalmente obtido. Temperaturas muito superiores a 900 °C provocaram a queima e a ruptura do fio de Ni-Cr. Para os trabalhos posteriores adotou-se a temperatura de 880 °C.

III.1.2. Emprego do Método Multivariado

A HG-AAS é uma técnica bem estabelecida para a determinação de arsênio e, associada à análise por injeção em fluxo, proporciona uma melhor seletividade, maior sensibilidade, maior frequência analítica, menor consumo de reagentes, diminuição dos resíduos gerados e diminuição dos efeitos de interferência, quando comparados à técnica clássica de geração de hidretos nos sistemas em batelada. Como as variáveis envolvidas no sistema FIA-HG-AAS são numerosas e pode ocorrer dependência de umas em relação às outras, julgou-se importante avaliar esta possibilidade.

O uso de métodos multivariados para a otimização desses parâmetros, empregando-se metodologias tradicionais como o *Simplex* ou as fundamentadas em gradientes, não conseguem interpretar as superfícies de respostas complexas em função do elevado número de variáveis. Uma alternativa para este problema é a aplicação do algoritmo genético ⁽¹¹⁰⁾ uma ferramenta matemática empregada para resolver os sistemas de respostas complexos, talvez como o sistema em estudo, no qual as variáveis podem depender umas das outras. Para se avaliar a contribuição de 6 variáveis que afetam a geração da arsina, empregou-se um planejamento fatorial fracionário 2^{6-1} . As variáveis selecionadas foram: [As]; [NaBH₄]; [HCl] no carregador e no preparo da amostra; vazão dos carregadores; comprimento da bobina de reação e volumes das solução da amostra e do redutor injetados. As outras variáveis, como vazão do gás de arraste e temperatura de atomização não foram incluídas neste estudo, devido aos problemas de ordem operacional, uma vez que não era possível selecionar e manter com precisão estes parâmetros entre os diversos ensaios.

A Tabela III.2 apresenta os níveis alto (+) e baixo (-) empregados no planejamento fatorial 2^{6-1} . Os valores atribuídos aos níveis alto e baixo foram selecionados a partir dos ensaios iniciais.

Tabela III.2 - Valores dos níveis alto e baixo selecionados para a realização do planejamento fatorial fracionário 2^{6-1} na determinação de arsênio com geração de hidreto.

Variável estudada	Nível alto (+)	Nível baixo (-)
[As] ($\mu\text{g L}^{-1}$)	20	10
[HCl] (mol L^{-1})	1,0	0,5
[NaBH ₄] (%)	2,0	1,0
Bobina (cm)	50	30
Volume de injeção (μL)	150	75
Vazão carregadores (mL min^{-1})	3	2

Na confecção da Tabela III.3, que traz as combinações dos níveis das variáveis e as interações entre as 6 variáveis envolvidas, o nível da 6ª variável, vazão dos carregadores, foi obtido a partir da interação das outras 5. Nos 32 ensaios realizados, o tratamento dos dados revelou que a concentração de As, a concentração de NaBH₄ e o volume de injeção foram as variáveis mais significativas evidenciando, ainda, a existência de uma interação entre concentração de As-volume de injeção e entre a concentração de NaBH₄-volume de injeção, resultado este que já era esperado uma vez que a formação da arsina depende diretamente da quantidade do reagente redutor. A acidez empregada foi suficiente para favorecer a formação do hidreto, uma vez que o analito se encontra no menor estado de oxidação, As(III). Considerando-se a arsina um dos hidretos mais estáveis dentre os compostos desta classe, parâmetros como tempo de reação (determinado em função do comprimento da bobina de reação) e vazão dos carregadores não foram significativos; a geração da arsina a partir de As(III) é um processo mais favorável do que a sua formação a partir do As(V). Caso o

As(V) fosse empregado como analito haveria a necessidade de um tempo maior para que a reação de redução ao menor estado de oxidação ocorresse.

Tabela III.3 - Planejamento fatorial fracionário 2^{6-1} e sinais de respostas obtidos.

Ensaio	[As]	[HCl]	[NaBH ₄]	Bobina	Volume injetado	Vazão Carregador	Resposta (absorbância)
1	10	0,5	1,0	30	75	2	0,048 /0,052 /0,049 /0,045
2	20	0,5	1,0	30	75	3	0,107 /0,114 /0,111 /0,111
3	10	1,0	1,0	30	75	3	0,066 /0,063 /0,069 /0,063
4	20	1,0	1,0	30	75	2	0,100 /0,114 /0,110 /0,110
5	10	0,5	2,0	30	75	3	0,048 /0,058 /0,058 /0,058
6	20	0,5	2,0	30	75	2	0,114 /0,114 /0,117 /0,114
7	10	1,0	2,0	30	75	2	0,093 /0,121 /0,131 /0,128
8	20	1,0	2,0	30	75	3	0,110 /0,127 /0,127 /0,134
9	10	0,5	1,0	50	75	3	0,066 /0,086 /0,083 /0,083
10	20	0,5	1,0	50	75	2	0,107 /0,124 /0,124 /0,110
11	10	1,0	1,0	50	75	2	0,055 /0,055 /0,055 /0,062
12	20	1,0	1,0	50	75	3	0,107 /0,124 /0,128 /0,128
13	10	0,5	2,0	50	75	2	0,038 /0,045 /0,045 /0,045
14	20	0,5	2,0	50	75	3	0,124 /0,141 /0,141 /0,141
15	10	1,0	2,0	50	75	3	0,065 /0,072 /0,079 /0,079
16	20	1,0	2,0	50	75	2	0,117 /0,117 /0,121 /0,117
17	10	0,5	1,0	30	150	3	0,121 /0,121 /0,131 /0,134
18	20	0,5	1,0	30	150	2	0,200 /0,200 /0,207 /0,207
19	10	1,0	1,0	30	150	2	0,104/ 0,118/ 0,113/ 0,114
20	20	1,0	1,0	30	150	3	0,227/ 0,227/ 0,227/ 0,224
21	10	0,5	2,0	30	150	2	0,041 /0,059 /0,059 /0,056
22	20	0,5	2,0	30	150	3	0,113 /0,138 /0,144 /0,131
23	10	1,0	2,0	30	150	3	0,031 /0,038 /0,034 /0,034
24	20	1,0	2,0	30	150	2	0,131 /0,100 /0,096 /0,091
25	10	0,5	1,0	50	150	2	0,061 /0,075 /0,075 /0,075
26	20	0,5	1,0	50	150	3	0,183 /0,186 /0,190 /0,190
27	10	1,0	1,0	50	150	3	0,114 /0,124 /0,131 /0,124
28	20	1,0	1,0	50	150	2	0,183 /0,196 /0,210 /0,200
29	10	0,5	2,0	50	150	3	0,025 /0,025 /0,028 /0,038
30	20	0,5	2,0	50	150	2	0,166 /0,162 /0,166 /0,176
31	10	1,0	2,0	50	150	2	0,083 /0,097 /0,080 /0,080
32	20	1,0	2,0	50	150	3	0,144 /0,158 /0,156 /0,156

Com os dados da Tabela III.3 e o programa computacional desenvolvido em linguagem MATLAB foi possível identificar os parâmetros que afetam a geração da arsina e, empregando-se as variáveis concentração de As, concentração de NaBH₄ e volumes de injeção da amostra e do redutor realizou-se um novo estudo,

ou seja, um planejamento fatorial 3^3 , com 3 níveis para cada variável, com a finalidade de se encontrar os valores ótimos para cada uma destas variáveis. A Tabela III.4 apresenta os níveis selecionados neste novo estudo e a Tabela III.5 mostra os resultados obtidos nessa otimização.

Tabela III.4 - Planejamento fatorial 3^3 para encontrar os valores ótimos de [As], [NaBH₄] e volumes de injeção no processo de geração da arsina.

Variável estudada	Nível (1)	Nível (2)	Nível (3)
[As] ($\mu\text{g L}^{-1}$)	10	15	20
[NaBH ₄] (%)	1,0	1,5	2,0
Volume de injeção (μL)	75	112,5	150

Tabela III.5 - Resultados obtidos do planejamento fatorial 3^3 na determinação de arsênio

Ensaio	[As]	[BH ₄]	Volume Injetado	Resposta (absorbância)
1	10	1	75	0,066 /0,069 /0,069 /0,069
2	15	1	75	0,097 /0,110 /0,103 /0,110
3	20	1	75	0,128 /0,135 /0,142 /0,145
4	10	1,5	75	0,067 /0,075 /0,075 /0,072
5	15	1,5	75	0,095 /0,098 /0,103 /0,103
6	20	1,5	75	0,150 /0,150 /0,144 /0,144
7	10	2	75	0,065 /0,068 /0,068 /0,068
8	15	2	75	0,091 /0,099 /0,101 /0,099
9	20	2	75	0,137 /0,142 /0,134 /0,137
10	10	1	112,5	0,099 /0,112 /0,104 /0,109
11	15	1	112,5	0,156 /0,158 /0,158 /0,158
12	20	1	112,5	0,190 /0,200 /0,200 /0,200
13	10	1,5	112,5	0,090 /0,090 /0,097 /0,093
14	15	1,5	112,5	0,120 /0,131 /0,131 /0,131
15	20	1,5	112,5	0,162 /0,179 /0,175 /0,175
16	10	2	112,5	0,096 /0,100 /0,100 /0,100
17	15	2	112,5	0,113 /0,124 /0,121 /0,121
18	20	2	112,5	0,155 /0,169 /0,169 /0,166
19	10	1	150	0,114 /0,125 /0,128 /0,125
20	15	1	150	0,163 /0,169 /0,170 /0,170
21	20	1	150	0,211 /0,214 /0,218 /0,214
22	10	1,5	150	0,086 /0,093 /0,097 /0,097
23	15	1,5	150	0,128 /0,131 /0,135 /0,135
24	20	1,5	150	0,173 /0,183 /0,186 /0,186
25	10	2	150	0,076 /0,079 /0,083 /0,083
26	15	2	150	0,103 /0,107 /0,114 /0,114
27	20	2	150	0,141 /0,145 /0,145 /0,155

Com os resultados obtidos na otimização das 3 variáveis selecionadas, mostrados na Tabela III.5, e o emprego da modelagem matemática com algoritmo genético que possibilita encontrar a superfície de resposta do sistema, foi obtida a equação (8):

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_1^2 + b_5x_2^2 + b_6x_3^2 + b_7x_1x_2 + b_8x_1x_3 + b_9x_2x_3 + b_{10}x_1x_2x_3 \quad (8)$$

onde:

x_1 = volume de injeção; x_2 = [NaBH₄] e x_3 = [As]

e os parâmetros do modelo são:

$b_0 = -0,1248$; $b_1 = -0,0017$; $b_2 = -0,0203$; $b_3 = 0,0032$; $b_4 = 0,0002$; $b_5 = 0,0130$;

$b_6 = 0,0$; $b_7 = 0,0022$; $b_8 = 0,0001$; $b_9 = -0,0002$; $b_{10} = 0,0$.

Calculando-se os valores dos efeitos (valores do b) para cada uma das variáveis x_1 , x_2 e x_3 e também para as combinações entre elas, percebeu-se que os efeitos de interação não são significativos e, assim, o modelo matemático descrito pela equação (8) pode ser simplificado para uma equação quadrática (9)

$$y = b_0 + b_2x_2 + b_5x_2^2 \quad (9)$$

A equação (9) não mostra um comportamento univariado, pois é uma parábola.

Os resultados obtidos nos procedimentos de otimização empregando o método univariado e multivariado foram semelhantes, mostrando que não há interações significativas entre as variáveis.

As condições ótimas para os níveis das variáveis, dentro da faixa estudada, foram:

[As] = 20 µg L⁻¹; [NaBH₄] = 1,0 % e volume de injeção = 150 µL.

A variável vazão do gás de arraste foi otimizada adotando-se:
[As] = 20 µg L⁻¹; [NaBH₄] = 1,0 %; [HCl] = 1,0 mol L⁻¹; volume injetado = 150 µL;

bobina de reação = 30 cm; vazão dos carregadores = 3,0 mL min⁻¹; temperatura de atomização = 900 °C, e os resultados obtidos foram os mesmos que os resultados fornecidos pelo método de otimização univariado, .

III.1.3. Parâmetros Otimizados para o Sistema FIA-HG-AAS

A Tabela III.6 resume os parâmetros otimizados na determinação de arsênio utilizando o sistema FIA-HG-AAS.

Tabela III.6 - Resultados obtidos na otimização dos parâmetros do sistema FIA-HG para a determinação de As.

Parâmetro	Intervalo estudado	Condição selecionada	Critério de seleção
Comprimento da bobina de reação (cm)	Bobinas de 10 a 80 cm	Bobina de 30 cm	Melhor sensibilidade e repetibilidade dos sinais
Volume de injeção (µL)	50 a 200 µL	150 µL	Aumento de sensibilidade para a [As] = 20,0 µg L ⁻¹
[NaBH ₄] (%)	0,1 a 2,0 %	1,0 %	Concentrações + elevadas produzem H ₂ em excesso, diluindo a arsina gerada
[HCl] na solução e no carregador (mol L ⁻¹)	0,25 a 5,0	1,0 mol L ⁻¹	Não foi um fator crítico para a metodologia proposta
Vazão dos carregadores (mL min ⁻¹)	1,0 a 4,2	3,0 mL min ⁻¹	Frequência analítica de ~135 injeções/hora
Vazão de N ₂ (mL min ⁻¹)	33 a 300	90 mL min ⁻¹	Boa sensibilidade para todas as concentrações estudadas
Temperatura de atomização	730 a 900 °C	880-900 °C	Sensibilidade adequada

III.2. Estudos de Interferências para a Determinação de Arsênio por FIA-HG-AAS

Como já apresentado na seção I.1.4, as interferências nesta técnica podem ser divididas em dois grupos: interferência na fase líquida e interferência na fase gasosa. ⁽⁶³⁾

Neste estudo foram avaliados os efeitos de 23 íons que poderiam causar interferência na fase líquida e/ou na fase gasosa. Às soluções de As(III) de concentração igual a $30 \mu\text{g L}^{-1}$ ($4,5 \text{ ng de As(III)}$) foram adicionadas quantidades conhecidas e crescentes do interferente nas proporções de 1:5, 1:10, 1:25, 1:100, 1: 500, 1:1000, 1:5000 e 1:10000, em relação à concentração de As(III). Uma determinada espécie foi considerada interferente quando a diferença no sinal de absorvância mostrou-se superior a 10%. O fator de interferência, FI , ^(106,111) é definido por $FI = A'/A$, onde A' é a absorvância da solução de As(III) na presença do interferente e A é a absorvância da solução de As(III). Se FI for igual a 1,00 (100%) significa que não há interferência, enquanto que valores maiores que 1,10 (110%) e menores que 0,90 (90%) indicaram que houve um aumento ou diminuição do sinal analítico, devido ao interferente.

O estudo de interferência na fase líquida revelou que Cd(II), Zn(II), Fe(II), Mn(II), Ti(IV) e Zr(IV) não afetam o sinal de absorvância de As(III) para o método proposto, porém Fe(III), Co(II), Mo(II), Al, Ni(II), Cu(II), Cr(III), Pb(II) e Ag(I) provocaram uma redução no sinal analítico superior a 10%, quando presentes na amostra num excesso de 5000 vezes em relação à concentração de arsênio. A interferência mais crítica ocorreu com Fe(III), num excesso de 5 vezes a concentração de As(III), como pode ser observado pelo gráfico apresentado na Figura III.9.

A literatura relata que as interferências severas na determinação de As por HG-AAS são as decorrentes de Cu(II), Ni(II), e também as causadas por Au(III), Pd(IV) e Pt(IV). ⁽⁶⁶⁾ Porém, como pode ser observado nos gráficos da Figura III.9, praticamente não ocorreu interferência causada por Cu(II) e Ni(II), dentro da faixa

de concentração estudada, até 150 mg L^{-1} para Ni(II) e 250 mg L^{-1} para Cu(II) . Outros íons, como Ag(I) e Cr(III) , causaram interferência quando presentes na concentração de 150 mg L^{-1} , reduzindo o sinal analítico em torno de 20 %. O uso de FIA HG-AAS para a determinação de As, bem como as condições de acidez ($\text{HCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$) e a concentração do reagente redutor (1,0 %), empregado em excesso, além do pequeno tempo de contato entre as espécies interferentes e o analito (15 segundos, empregando a bobina de reação de 30 cm), foram suficientes para minimizar um efeito de interferência dos íons investigados.

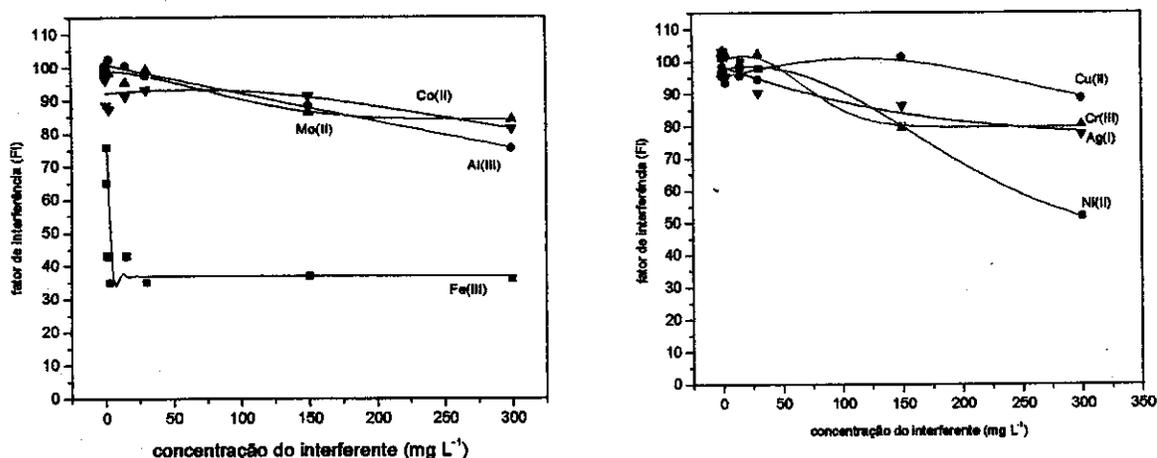


Figura III.9 - Efeito da interferência na fase líquida para a determinação de As.

$[\text{As}] = 30 \mu\text{g L}^{-1}$

à esquerda: Al(III) ; Fe(III) ; Co(II) ; Ni(II)

à direita: Ag(I) ; Cu(II) ; Mo(II) ; Cr(III)

A interferência dos elementos na fase gasosa apresentou-se mais crítica do que a interferência na fase líquida, uma vez que todos os elementos que geram hidretos interferiram na determinação de As(III) , mesmo quando presentes em quantidades muito pequenas. Observou-se uma redução no sinal de absorvância de As(III) na presença de Bi(III) , Se(IV) , Se(VI) , Sn(II) , Sb(III) e Sb(V) e Ge(IV) . A interferência mais severa ocorreu com Se(IV) e Sb(III) na razão de 1:5 e 1:25, respectivamente. Bi(III) , Sn(II) , Sb(V) e Se(VI) causam a interferência na razão de

1:100, enquanto o Hg(II), incluído neste grupo uma vez que é reduzido a Hg elementar pelo NaBH₄, interfere num excesso de 500 vezes. Exceto para Hg(II), os demais íons causam, além da interferência, um efeito de memória, no qual o elemento interferente, na forma elementar, fica retido no atomizador, acarretando em ausência do sinal de As(III) em testes posteriores, mesmo na ausência do interferente. Neste caso, há a necessidade de se efetuar a limpeza e silanização da cela de atomização. O gráfico da Figura III.10 apresenta o efeito da interferência destas espécies. Para uma melhor visualização, os elementos selecionados neste estudo foram separados em dois grupos. Pelas curvas obtidas foi possível verificar que a interferência mais crítica ocorreu com Se(IV) e com Sb(III), comportamento este que já era esperado em virtude da "semelhança química" entre os elementos dos grupos 15 e 16, gerando respectivamente as espécies SeH₂ e SbH₃.

Durante os ensaios verificou-se a formação de um precipitado preto na presença de Bi(III) e de Pb(II) e um precipitado cinza com Hg(II), característicos das formas metálicas destes elementos, depositados na placa porosa do separador gás-líquido e também nos condutores, evidenciando a interferência destas espécies também na fase líquida.

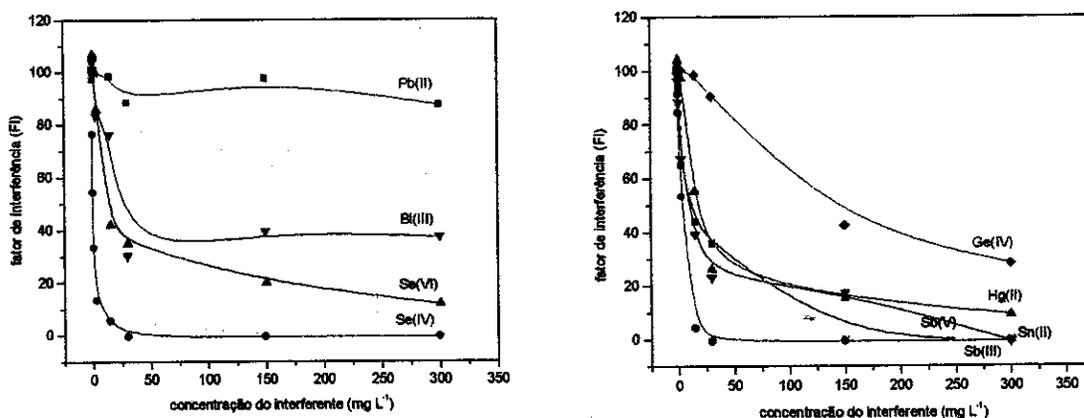


Figura III.10 - Efeito da interferência na fase gasosa para a determinação de As.

[As] = 30 $\mu\text{g L}^{-1}$

à esquerda: Pb(II); Bi(III); Se(IV); Se(VI)

à direita: Hg(II); Sn(II); Ge(IV); Sb(III) e Sb(V)

III.3. Estudo de Possíveis Mascarantes para Eliminar ou Minimizar a Interferência

III.3.1. Mascarantes para a Interferência na Fase Líquida

Com a finalidade de eliminar ou minimizar o efeito dos íons interferentes, empregaram-se reagentes redutores auxiliares como tiouréia, L-cisteína, KI e ácido ascórbico. Além disso, foram testados o aumento da concentração de HCl na amostra e no carregador, bem como o aumento da concentração de NaBH₄. Inicialmente optou-se pelo aumento da concentração de NaBH₄, uma vez que os parâmetros do sistema FIA-HG-AAS já haviam sido otimizados, e o sistema suportava concentrações de até 2,0 % de NaBH₄. Empregando-se uma solução de 2 % de NaBH₄ o sinal analítico para As(III), na presença dos interferentes, diminuiu em até 25 %, com produção excessiva de H₂ e elevado sinal de absorção de fundo. O H₂ produzido em excesso afeta os equilíbrios de reação que ocorrem no atomizador além de diluir a arsina durante o transporte até a câmara de atomização, causando a redução do sinal analítico. Com o uso de altas concentrações de HCl, a reação torna-se muito turbulenta e não minimiza as interferências das espécies em estudo.

Outros reagentes redutores testados, que contêm enxofre em sua constituição, como a tiouréia e a L-cisteína, provocaram uma redução em torno de 20 % no sinal analítico não sendo indicada a sua utilização nas condições de reação em que foram empregados. A literatura aponta para o emprego da L-cisteína como reagente redutor auxiliar, mascarando as interferências dos íons mais problemáticos, como Cu(II), Ni(II) e os metais do grupo da platina, em condições de reação extremamente brandas, empregando HCl 0,01 mol L⁻¹, com o aquecimento do sistema em torno de 70 °C. Como foi apresentado na seção III.1.4. (efeito da concentração de HCl), a geração da arsina ocorre quando o carregador ou a solução da amostra encontram-se num intervalo de 0,5 a 5,0 mol L⁻¹ em HCl; entretanto, com o uso de HCl 0,01 mol L⁻¹ no preparo da amostra e

como carregador, os sinais de absorvância obtidos foram muito baixos, semelhantes aos sinais obtidos para o 'branco'. Outro problema está no aquecimento do sistema reacional, uma vez que H_2 é gerado como produto da reação. Com o aquecimento, ocorre aumento da pressão interna e o fluxo torna-se mais turbulento, provocando vazamentos no sistema FIA, implicando na ausência de repetibilidade do sinal analítico.

O mascarante mais eficiente foi a adição de uma mescla redutora com KI e ácido ascórbico (0,5:1 %, m/v), adicionada ao frasco que contém a amostra preparada em HCl 5,0 mol L⁻¹. Com esta mescla redutora, a recuperação para o sinal de absorvância de As(III) foi superior a 90%, quando os íons interferentes foram testados individualmente, nas concentrações em que causaram a interferência. A ação deste mascarante mostrou uma recuperação de 99 % do sinal de absorvância obtido para As, na presença de um "coquetel" de íons composto pela razão As(III):íon interferente igual a 1:5 [Fe(III)], 1:500 [Al(III)], 1:25 [Mo(II)], 1:5[Co(II)], 1:100 [Ni(II)], 1:100 [Cu(II)], 1:100 [Cr(III)] e 1:5 [Ag(I)]. Tentativas de adição "on-line" da mescla redutora não forneceram um resultado satisfatório.

III.3.2. Mascarantes para a Interferência em Fase Gasosa

Inicialmente, avaliou-se a possibilidade de utilizar o mesmo mascarante usado para minimizar a interferência dos íons na fase líquida (KI/ácido ascórbico (0,5:1 %, m/v) em HCl 5,0 mol L⁻¹, adicionado fora de linha do sistema FIA. Em testes individuais, esta mescla forneceu uma recuperação superior a 90 % para Hg(II) (1:100), Bi(III) (1:100), Sn(II) (1:100), Se(VI) (1:100), Se(IV) (1:25); uma recuperação em torno de 77 % para Sb(V) (1:25) e de 53 % para Sb(III) (1:5). A ineficiência deste reagente testado para minimizar a interferência em fase gasosa provocada pelos íons Sb deve-se à formação de moléculas diatômicas, AsSb, estáveis à temperatura de atomização da arsina.^(77,112) Um procedimento para eliminar a interferência de Se e Sb emprega uma mescla redutora composta por

KI+ α -hidroxi-ácidos, como ácido málico, cítrico e láctico.⁽⁸²⁾ Por outro lado, a interferência de Se no meio reacional foi mascarada pelo uso de KI, o qual reduz Se(IV) a Se elementar, impedindo a formação de SeH₂.⁽⁸⁴⁾

Um coquetel de íons foi preparado, baseado na composição de um material biológico certificado, usando a seguinte relação As(III):interferente: Al(III) (1:200), Cu(II) (1:13), Fe(III) (1:133), Zn(II) (1:60), Mn(II) (1:7), Ni(II) (1:35), Se(IV) (1:0,35), Se (VI) (1:0,35) e Sn(II) (1:0,33). A aplicação da mescla KI/ácido ascórbico a este coquetel forneceu uma recuperação em torno de 90%. A Tabela III.7 apresenta os resultados obtidos para diferentes proporções da mescla redutora, aplicada ao coquetel mencionado acima.

Tabela III.7- Estudo da razão KI/ácido ascórbico em função da recuperação de As.

Razão KI/ácido ascórbico (%, m/v)	Recuperação de As (%)
2:1	96
1:1,5	94
0,5:1	102

Como a recuperação de As foi adequada para qualquer uma das três opções de concentração dos reagentes da mescla estudada, fixou-se a composição da mescla redutora em 0,5:1 % (m/v) em KI e ácido ascórbico, respectivamente. Estas concentrações foram ajustadas quando se trabalhou com soluções analíticas, mas deve-se estar atento para uma adequação destes valores quando da análise de amostras reais, em função das diferentes composições da matriz.

Quando uma solução contendo As(V) foi introduzida no sistema FIA-HG-AAS, o sinal analítico obtido foi 50 % menor daquele obtido para As(III); isto deve-se ao consumo pelo agente redutor, NaBH₄, que promove a redução preferencial à As(III), ficando a sua concentração inferior à necessária para gerar os radicais H^o. Quando As(V) está presente no meio reacional é necessário o emprego de

agentes redutores auxiliares, os quais devem exercer também um efeito de mascaramento sobre os interferentes. Iodeto de potássio e ácido ascórbico são ainda hoje muito empregados para tal finalidade. Assim, para avaliar a eficiência da mescla redutora utilizou-se o mesmo coquetel de íons descrito acima, porém com a espécie de interesse na forma de As(V). Uma recuperação em torno de 97 % mostra a eficiência da mescla redutora selecionada, independente do estado de oxidação do arsênio.

III.3.3. Efeito do Mascarante em uma Amostra

Uma análise química pode ser bastante complexa, dependendo do tipo de matriz. Em alguns casos, é possível a introdução direta da amostra, sem uma etapa de mineralização, e a adição do mascarante deve ser suficiente para eliminar as interferências. Por outro lado, quando a etapa de mineralização é necessária, o meio de reação é modificado em função dos reagentes utilizados nesta etapa. O ácido nítrico é largamente empregado para a etapa de mineralização, mas como a geração da arsina é favorecida a partir de As (III), é necessário eliminar o HNO_3 antes da introdução da amostra no sistema, uma vez que o HNO_3 consome o reagente redutor. A literatura⁽⁶⁵⁾ descreve um trabalho mostrando a interferência de óxidos voláteis de nitrogênio, NO_x , provenientes dos processos de digestão que empregam o HNO_3 . Esses óxidos voláteis podem interferir na formação da arsina em processos de coleta do gás.

No presente trabalho foi feita a determinação de arsênio em grãos de café. Neste caso, a amostra enriquecida com As(III) foi tratada com nitrato de magnésio e ácido nítrico e a recuperação de arsênio obtida é apresentada na Tabela III.8, para duas diferentes condições. O KI, mesmo em alta concentração, porém na ausência de ácido ascórbico, não foi eficiente para reduzir o arsênio e mascarar os possíveis interferentes ou, então, o iodeto interferiu devido à sua alta concentração, formando AsI_3 . Já na presença da mescla redutora, selecionada no

estudo de interferência, a recuperação foi completa, mostrando a eficiência da mesma para eliminar o efeito interferente de diferentes espécies.

Tabela III.8 -Recuperação de As em grãos de café para diferentes condições da mescla mascarante/redutor (n=3).

Amostra	% de recuperação de As com HCl 2,5 mol L ⁻¹ e 10% de KI	% de recuperação de As com HCl 5,0 mol L ⁻¹ e KI/ácido ascórbico (0,5:1)
Café 1	54	105
Café 2	34	102
Café 3	35	100

III.4. Figuras de Mérito

A Figura III.11 ilustra a curva analítica para As(III), obtida com os parâmetros otimizados. Foi construída uma curva de calibração com concentrações até 100 µg L⁻¹ de As(III) e o sistema mostrou-se linear para o intervalo entre 4 a 30 µg L⁻¹ de As(III). Os pontos experimentais descrevem uma reta cuja equação é: $Y=0,00936+0,01327[As]$, onde Y é o sinal analítico (absorbância medida), com coeficiente de correlação para 8 pontos igual a 0,99713. O limite de detecção instrumental, LD, calculado como a razão entre 3 vezes o desvio padrão do branco e o coeficiente angular da curva de calibração, foi de 340 ng L⁻¹, correspondente a 51 pg de As(III). O desvio padrão relativo, RSD, calculado a partir de 6 determinações em replicata, foi de 5,0 % para 4 µg L⁻¹ de As(III) e de 1,8 % para 30 µg L⁻¹ de As(III). A frequência analítica média é de 135 injeções/hora.

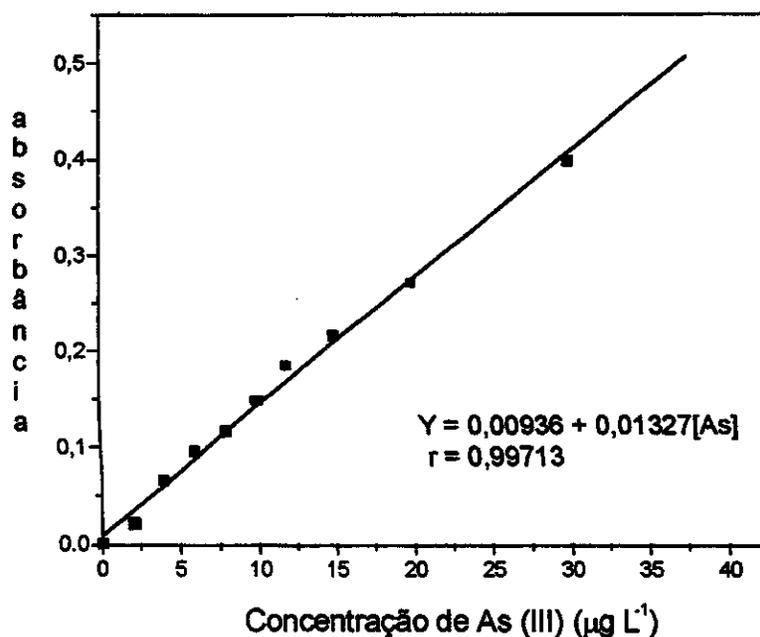


Figura III.11- Curva analítica para arsênio obtida com o sistema FIA-HG-AAS sem a adição de KI/ácido ascórbico, empregada para calcular as figuras de mérito.

Para verificar a exatidão da metodologia proposta, os materiais de referência *Oyster tissue*-SRM 1566a, *Sediment river*-CRM 320 e *Cod muscle*-CRM 422, foram analisados, após o procedimento de mineralização descrito na Parte Experimental. A Tabela III.9 mostra os resultados obtidos com o método proposto, os quais são concordantes com os valores certificados, uma vez que se encontram dentro do intervalo de confiança do valor certificado (Anexos VI.2, VI.3 e VI.4).

Observa-se também uma melhor precisão das medidas empregando o método proposto, para todos os materiais. Em relação à exatidão, o maior erro ocorreu para o *Oyster tissue*. As ostras fazem parte do grupo de espécies usadas como bioindicadores de poluição marinha.^(7,10) Nestes organismos, o arsênio pode estar presente na forma de organocompostos, como a AsB (arsenobetaína), cujas ligações são resistentes à clivagem ácida nos procedimentos convencionais de

mineralização em frascos abertos. Assim, o tratamento da amostra é dependente das condições (tempo, temperatura, pressão) e constitui-se na etapa mais crítica da análise deste material. Para a sua mineralização, foram empregados dois procedimentos: calcinação em mufla e em forno de microondas, e a diferença nos resultados deve-se à eficiência alcançada em cada um dos procedimentos, em função de suas características. O Anexo VI.5 mostra a curva de calibração e os sinais gráficos correspondentes, obtidos na determinação de As no *Oyster Tissue*.

Tabela III.9 - Determinação de As em material de referência certificado.

Material de referência	Valor certificado	Valor obtido
<i>Oyster tissue</i>	$14 \pm 1,2 \mu\text{g g}^{-1}$	$13,2 \pm 0,3 \mu\text{g g}^{-1}$ ^(a) $13,5 \pm 0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ ^(b)
<i>Cod muscle</i>	$21,1 \pm 0,5 \mu\text{g g}^{-1}$	$20,6 \pm 0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ ^(a)
<i>River sediment</i>	$76,7 \pm 3,4 \text{mg kg}^{-1}$	$75,9 \pm 2,0 \text{mg kg}^{-1}$ ^(b)

(a) calcinação em mufla

(b) mineralização ácida em forno de microondas

III.5. Determinação de Arsênio em Diferentes Amostras

O interesse na determinação de arsênio deve-se a toxicidade das suas formas inorgânicas, podendo ser um contaminante de elevada periculosidade em águas superficiais e subterrâneas, e em outras matrizes, como alimentos *in natura* e processados. Em águas, a contaminação pode ser proveniente dos processos de intemperismo, nos quais solos ricos ou contaminados com As poluem os lençóis freáticos. Nos alimentos, a contaminação pode ser proveniente dos procedimentos empregados no manejo agrícola, pelo uso de defensivos ou até mesmo pela irrigação com água contaminada.

Nas análises químicas, uma menor manipulação das amostras, apresenta vantagens como menor risco de contaminação, menor custo e menor tempo. Atualmente, procedimentos de análise com a introdução direta das amostras, vêm se destacando como uma das tendências da química, independente do tipo de

amostra ou da espécie a ser determinada.⁽¹¹³⁾ Porém, o sucesso da determinação de arsênio tem uma forte dependência do processo empregado para separá-lo da matriz e também da sua disponibilidade em uma forma química adequada. Muitas vezes são necessários procedimentos de separação prévia do analito, além da técnica de geração de hidreto, como na análise de tecidos de animais marinhos, nos quais compostos metilados de As exibem um comportamento bastante diferente das espécies inorgânicas de As. Quando é necessário decompor a matéria orgânica, os métodos convencionais de digestão em frasco aberto apresentam os inconvenientes descritos anteriormente. O emprego de digestão em frascos fechados e sob pressão, com uso de fornos de microondas, implica em excelente rapidez e reprodutibilidade operacional e, principalmente, evitam as possíveis perdas e contaminação dos sistemas abertos.^(114,115) Porém, deve-se estar atento aos incompletos procedimentos de mineralização, os quais podem ocorrer com elementos como o arsênio.

O método proposto neste trabalho foi aplicado à diferentes amostras, tanto pela introdução direta das mesmas como após a sua mineralização (calcinação empregando $Mg(NO_3)_2$ após a destruição parcial da matriz com HNO_3 , ou um tratamento ácido mineral em forno de microondas), na presença da mescla redutora de KI/ácido ascórbico.

As amostras de água de superfície (rio) e subterrânea (mina e de nascente), água mineral, suco de frutas industrializado e vinhos foram analisadas pela introdução direta, enquanto que as amostras de grãos de café e de peixe foram submetidas à análise após o procedimento de calcinação. As amostras de vinhos foram também submetidas à análise com tratamento ácido mineral em forno de microondas.

III.5.1. Peixe de Água Doce

Foram analisadas as amostras de peixes de água doce, provenientes de tanques “pesque-pague” com suspeita de contaminação. Esta contaminação pode

ser proveniente da ração animal empregada na alimentação dos peixes nestes tanques de engorda, uma vez que há relatos na literatura de que derivados do ácido para-arsanílico podem ser utilizados como aceleradores de crescimento para aves, suínos e bovinos.⁽¹⁶⁾ Os piscicultores da região local (Vale do Paraíba, SP) utilizam-se de rações animais não específicas como fonte de alimentação nos tanques. A legislação brasileira vigente^(116,117) estabelece um limite máximo de 1 mg As/ kg de peixe fresco.

A Tabela III.10 apresenta os resultados obtidos com o método proposto, comparados com HG-ICP OES (análise feita no ITAL, Campinas).

Tabela III. 10 - Determinação de As (mg kg^{-1}) em amostras de peixe usando 2 diferentes técnicas de detecção. Última coluna : mg de As/ kg peixe fresco

Amostra	[As] (mg kg^{-1}) HG-ICP OES <i>Base seca</i>	[As] (mg kg^{-1}) FIA-HG-AAS <i>Base seca</i>	Umidade (%)	[As] (mg kg^{-1}) FIA-HG-AAS <i>Base úmida</i>
1	3,25 ± 0,05	3,28 ± 0,06	78,03	0,7
2	0,25 ± 0,01	0,27 ± 0,01	69,92	0,09
3	0,38 ± 0,02	0,37 ± 0,01	76,56	0,1
4	2,12 ± 0,03	2,14 ± 0,02	82,48	0,3
5	2,24 ± 0,07	2,43 ± 0,03	79,79	0,5
6	0,37 ± 0,02	0,31 ± 0,01	70,36	0,09
7	11,66 ± 0,30	10,34 ± 0,21	80,30	2,2
8	1,47 ± 0,03	1,71 ± 0,06	78,03	0,4

Os resultados mostraram boa precisão, levando-se em conta os níveis de concentração do analito nas amostras. Por outro lado, comparando-se os resultados obtidos com as duas técnicas, observa-se uma diferença menor do que 10 %, exceto para as amostras 6 a 8, cuja diferença é menor do que 20 %. Estas diferenças podem ser atribuídas à digestão incompleta da matriz ou, então, à ação

da mescla mascarante redutora (concentração inadequada para o nível de contaminantes e tempo transcorrido entre o preparo da amostra e a determinação usando o sistema proposto, que foi de aproximadamente 15 horas). Os resultados mostraram que o sistema proposto é adequado para a determinação de arsênio, com a vantagem do menor custo, quando comparado com a técnica de ICP OES.

Os resultados foram expressos em base seca e, para se calcular a concentração de arsênio nas amostras e expressá-los em termos de contaminação, segundo a legislação brasileira vigente,^(116,117) deve-se considerar o teor de umidade. Assim sendo, pode-se observar pelo resultado da última coluna da Tabela III.10 que somente a amostra 7 apresentou um teor de arsênio acima do permitido pela legislação vigente.

III.5.2. Sucos de Frutas

A introdução direta do suco de maracujá enriquecido com As forneceu uma recuperação em torno de 85 %, apesar da excessiva formação de espuma no separador; os sucos de maçã e de caju, mais viscosos, obstruíram os condutores e a alça de amostragem do sistema FIA e não conseguiram atingir o separador. O suco de uva, com menor quantidade de matéria em suspensão, forneceu uma recuperação de aproximadamente 90 % quando da introdução direta da amostra no sistema de análise, considerado um teor de recuperação satisfatório. O maior problema encontrado para esta matriz, quando introduzida diretamente no sistema FIA-HG-AAS sem uma digestão prévia, é a grande quantidade de espuma formada no separador gás-líquido, característica de sistemas com incompleta oxidação dos seus constituintes que, junto com o gás hidrogênio formado, pode ser arrastada para o atomizador, e então carbonizar. Isto pode acarretar em uma diminuição do sinal analítico. Além disso, devido à interferência cinética associada ao efeito da matriz suco, a espuma pode "reter" o hidreto resultando no atraso de sua liberação, diminuindo o sinal analítico. Estes fatos, demonstram que maiores estudos são necessários para a introdução direta desta matriz. A Tabela III.11

apresenta os resultados de recuperação de As inorgânico nas amostras de sucos de uva e maracujá, os quais foram adequados para a amostra de suco menos viscoso; isto mostra que é importante um conhecimento prévio das características físicas das amostras.

Tabela III.11- Recuperação de As inorgânico em amostras de sucos de frutas (n=6). Os resultados foram obtidos contra curva de calibração preparada com KI/ácido ascórbico

Amostra	[As(III)] adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	[As] recuperada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	% de Recuperação
suco de maracujá	20,0	17,7 \pm 0,6	89
	25,0	21,3 \pm 0,8	85
	30,0	26,0 \pm 1,0	87
suco de uva	20,0	18,3 \pm 0,8	92
	25,0	24,2 \pm 0,4	97
	30,0	27,8 \pm 0,4	93

III.5.3. Vinho Branco e Vinho Tinto

Quando amostras de vinho branco e vinho tinto enriquecidas com As foram introduzidas no sistema de análise, observou-se uma excessiva formação de espuma, provocando um elevado sinal de absorção de fundo e supressão do sinal analítico.

Inicialmente, suspeitou-se que a supressão do sinal analítico era decorrente da excessiva formação de espuma na bobina de reação e no separador, atribuída à matriz vinho, que é uma estrutura orgânica complexa, constituída de açúcares, etanol, glicerol, flavonóides e, também, espécies inorgânicas como Na, Fe, Ca, Mg, cloretos e sulfatos.⁽¹¹⁸⁾

Segura et al.⁽¹¹⁹⁾ e Cacho et al.⁽¹²⁰⁾ também observaram a supressão do sinal analítico, na determinação de As por introdução direta de amostras de vinho e cerveja com HG-AAS e, na determinação de chumbo em vinhos, respectivamente.

A interferência de espécies inorgânicas nos processos de geração de hidretos já está bem estabelecida,⁽⁶³⁾ mas quase nada é mencionado sobre a interferência de solventes orgânicos, como os álcoois. Na determinação de As e Pb em vinhos, Bruno et al.⁽¹²¹⁾ afirmaram que os componentes inorgânicos como os íons Na, Ca, cloreto e ainda EtOH, açúcares e glicerol não foram os responsáveis pela redução em 50 % no sinal analítico para a determinação de As por atomização eletrotérmica com forno de grafite. Os autores atribuíram essa supressão ao uso de HNO₃ empregado na mineralização da amostra.

Para verificar se a supressão do sinal analítico era devido à presença das espécies inorgânicas, adicionou-se à uma alíquota da amostra uma mistura de KI-ácido ascórbico 1:2 % (m/v) em HCl 5,0 mol L⁻¹. Apesar da redução na quantidade de espuma formada, não foi obtido sinal analítico, além de elevado sinal para absorção de fundo. É provável que a elevada acidez do meio tenha inibido parcialmente os componentes responsáveis pela formação da espuma.

Como a supressão do sinal não foi causada por espécies inorgânicas, avaliou-se o efeito do etanol. Para isso, foi preparada uma curva analítica em meio etanólico (10 %) mas, novamente, só o sinal de absorção de fundo foi observado, com oscilação da linha de base. O efeito do teor de etanol foi avaliado num intervalo de concentração entre 0-30 % para uma concentração de As igual a 30 µg L⁻¹. Como pode ser observado pelo gráfico na Figura III.12, com 5 % de EtOH no meio reacional, a supressão do sinal analítico já foi evidenciada.

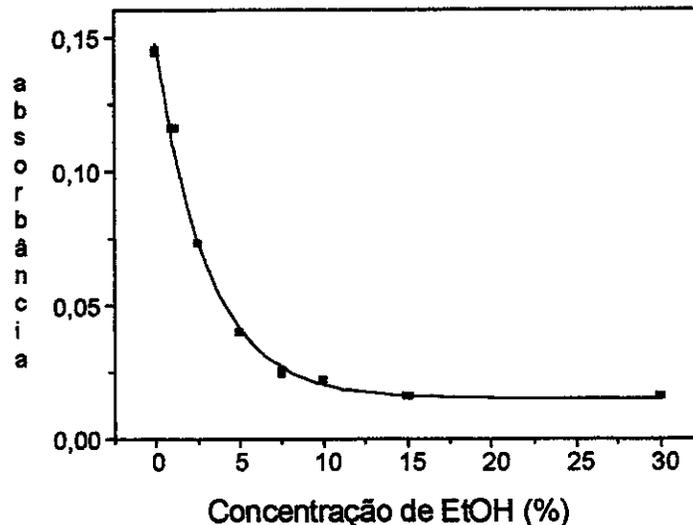


Figura III.12- Efeito do etanol no sinal analítico de uma solução de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III).

Para explicar a supressão do sinal analítico, a hipótese mais aceita é que quando o vapor de etanol atinge o sistema de atomização, as espécies moleculares e/ou radicalares voláteis, provenientes do EtOH, interferem nos equilíbrios de reação, quando a câmara de atomização é um tubo de quartzo eletricamente aquecido. Neste caso, ocorre a reação entre os radicais gerados pela decomposição térmica de EtOH, na fase de atomização, com radicais H° e/ou As° . Por outro lado, caso a interferência ocorra preferencialmente durante o processo de geração da arsina, ocorre uma reação entre EtOH e os radicais hidrogênio, provenientes da decomposição do borohidreto. Outra hipótese levantada durante a discussão deste trabalho é que poderia ocorrer uma solubilização da arsina em etanol, acarretando na supressão do sinal analítico. Porém, a literatura não traz nenhuma informação a respeito desta hipótese.

Desta forma, como não foi possível a determinação de arsênio pela introdução direta das amostras, foi necessário mineralizar os vinhos, assim como avaliar a mescla digestora que seria empregada para tal finalidade.

Como mescla ácido-digestora para a mineralização de uma amostra de vinho branco enriquecida com As, foram avaliados: HNO₃ 65 %, HNO₃/H₂O₂ e, ainda, HNO₃ 30 % (este última concentração sugerida por Bruno et al.⁽¹²¹⁾). Os resultados mostraram um maior eficiência na recuperação de As quando HNO₃ 65 % foi empregado, conforme a Tabela III.12.

Tabela III.12- Efeito de diferentes misturas ácido-digestoras para mineralização de vinho branco (n=3)

Composição da mescla digestora	[As] adicionado (µg L ⁻¹)	[As] recuperado (µg L ⁻¹)	Recuperação (%)
HNO ₃ 65 %	30,0	29,9± 0,9	100
HNO ₃ 65 %+ H ₂ O ₂ 30 %	30,0	20,4± 0,7	63
HNO ₃ 30 %	30,0	26,1± 0,8	87

A Tabela III.13 apresenta os resultados de recuperação para as amostras dos vinhos branco e tinto, submetidas à diferentes procedimentos de análise: introdução direta; introdução direta após evaporação em chapa elétrica e mineralização ácida em forno de microondas.

Tabela III.13 -Resultados da recuperação de As em vinhos por diferentes procedimentos de introdução de amostra no sistema FIA-HG-AAS.

Procedimento	[As] (µg L ⁻¹)	Branco suave	Tinto suave	Branco seco
Introdução direta	Adicionado	20,0	20,0	20,0
	Recuperado	-	-	-
Evaporação (80 °C)	Adicionado	20,0	25,0	Nd
	Recuperado	11,9 ± 1,2 a 17,4 ± 0,8	18,5 ± 1,2 a 22,9 ± 1,0	Nd
Mineralização	Adicionado	20,0	20,0	25,0
	Recuperado	19,9 ± 0,2	19,4 ± 0,3	24,8 ± 0,1

Nd - não detectado

Para as amostras de vinho branco e vinho tinto os resultados apresentados mostraram uma recuperação superior a 98 %, quando as amostras foram submetidas a um tratamento ácido mineral em forno de microondas empregando 10 mL de HNO_3 para 5,00 mL de amostra. Com a introdução direta destas amostras, após a evaporação das mesmas em chapa elétrica, os resultados de recuperação não foram repetitivos, sendo atribuídos ao teor alcóolico e a problemas de carbonização da matéria orgânica no sistema de atomização. Semelhante ao problema encontrado com os sucos, as amostras de vinho também formam muita espuma e, além disso, os vinhos suaves são amostras que contêm um teor considerável de açúcares. Considerando-se que todo o conteúdo alcóolico presente nestas amostras tenha sido evaporado na chapa ($T=80\text{ }^\circ\text{C}$), a não repetibilidade dos resultados seria então atribuída à matéria orgânica que possivelmente atinge o atomizador. Desta forma, para a determinação de As em vinhos é necessário considerar o efeito de ambos: o teor alcóolico e a matriz orgânica.

III.5.4. Água de Rio

Na Tabela III.14 são apresentados os resultados de recuperação de As em amostras de água de rio, a princípio isentas de contaminação pelo elemento, introduzidas no sistema FIA-HG-AAS após filtração em membrana porosa, sem a adição do mascarante. Os resultados de recuperação de As foram superiores a 90 % para as amostras de água dos rios Atibaia (SP) e Pretinho (AM), e em torno de 74 % para a amostra de água proveniente do Rio Capivari (SP). Uma explicação para este baixo resultado de recuperação é a possível contaminação da água por solventes orgânicos, em função do local da amostragem, uma vez que a coleta foi efetuada próxima a um efluente industrial na região do Distrito Industrial de Campinas.

Tabela III.14- Recuperação de As inorgânico ($\mu\text{g L}^{-1}$) para amostras de rio (n=6)

As(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$) adicionado	As ($\mu\text{g L}^{-1}$) recuperado		
	Atibaia	Capivari	Pretinho
0	-	-	-
12,0	11,6 \pm 0,3	8,8 \pm 0,6	11,4 \pm 0,2
18,0	17,5 \pm 0,5	12,9 \pm 0,7	16,7 \pm 0,6
22,0	20,9 \pm 0,3	17,2 \pm 0,6	20,9 \pm 0,4
28,0	25,5 \pm 0,4	20,3 \pm 0,4	25,2 \pm 0,2

III.5.5. Água de Superfície e Água Subterrânea

Amostras de água de superfície (Rio do Carmo) e água subterrânea (da mina Chico Rei e da Bica do Padre Faria - nascente) de Ouro Preto, no Quadrilátero Ferrífero, MG, foram fornecidas pelo Instituto de Geociências da Unicamp (IG). Os resultados do teor de As inorgânico total encontrado nas amostras são apresentados na Tabela III.15, bem como os resultados encontrados pelo IG.

Tabela III.15 - Concentração de As ($\mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de água de superfície (rio) e subterrânea (mina e nascente) (n= 6)

Amostra de água	As ($\mu\text{g L}^{-1}$) método proposto*	As ($\mu\text{g L}^{-1}$): IG
Rio	30,0 \pm 0,5	30
Subterrânea - mina	265 \pm 3	260
Subterrânea - nascente	113 \pm 2	62

IG - Instituto de Geociências (sistema HG-AAS comercial)

* - adição de KI/ácido ascórbico 0,5:1 % (m/v) em HCl 5,0 mol L⁻¹

As amostras de águas subterrâneas apresentaram teores de As bastante significativos, necessitando de procedimentos de diluição. Uma delas é

proveniente do interior de uma mina de ouro, atualmente desativada. A outra, é proveniente de uma nascente situada na base de uma montanha (onde as coletas foram realizadas) e a água percorre um trajeto até chegar à Bica do Padre Faria, onde é usada para consumo da população local e dos turistas. Para esta amostra, a discrepância entre os resultados obtidos com os dois procedimentos pode ser atribuída à distribuição das espécies de arsênio, em função do tempo entre a amostragem e a análise e, também, às condições de preservação e armazenamento da amostra, devido à alta atividade microbiológica desta matriz. ^(17,18)

III.5.6. Água Mineral

Nos dias atuais, uma tendência é o consumo de água mineral engarrafada por uma parcela razoável da população nos centros mais urbanizados, em virtude da busca de um bem estar e uma vida mais saudável. As vendas de água mineral, desde o início do Plano Real, têm aumentado em média, 20% ao ano, e o faturamento do setor somou US\$ 350 milhões no ano de 2000. O total de litros comercializados passou dos atuais 3,65 bilhões para 4,3 bilhões no ano de 2001, o que representa o dobro da produção, engarrafamento e consumo de 5 anos atrás. Existe ainda uma grande preocupação com relação à escassez de água potável no mundo, o que tem estimulado um controle rigoroso para águas minerais e naturais. ⁽¹²²⁾

A determinação de As em amostras de água mineral de três diferentes engarrafadoras, que abastecem parte da população de Campinas, mostrou os resultados apresentados na Tabela III.16. As amostras foram enriquecidas com As e, então, submetidas à análise. Foi obtida uma recuperação superior a 95%. Entretanto, foi observado um efeito interferente na água carbonatada, o qual pode ser atribuído ao ânion bicarbonato ou à basicidade da amostra, ou a ambos os fatores. Quando a amostra de água carbonatada entra em contato com o carregador (HCl 1,0 mol L⁻¹) ocorre a formação de CO₂, que juntamente com o

hidrogênio gerado pode causar diluição da arsina em fase gasosa, reduzindo o sinal analítico. O rótulo da água mineral indica uma concentração total de bicarbonato de aproximadamente 150 mg L⁻¹. A interferência causada pelo bicarbonato neste caso não foi relevante a ponto de se buscar alternativas para eliminá-la.

Tabela III.16 - Recuperação de As ($\mu\text{g L}^{-1}$) em água mineral (n=6)
 $[\text{As}]_{\text{adicionado}} = 20 \mu\text{g L}^{-1}$

ÁGUA MINERAL	[As] recuperado	% de recuperação
A	20,2±0,2	101±1
B	19,8± 0,2	99±1
C (carbonatada)	18,7±0,1	95±1

Os resultados obtidos na determinação de arsênio para diferentes tipos de matrizes mostram a versatilidade da metodologia proposta. Por outro lado, como para algumas das matrizes de interesse o teor de As pode encontrar-se abaixo do limite de detecção, foi proposto neste trabalho uma etapa de pré-concentração *on line*, a fim de aumentar a sensibilidade do método.

III.6. Estudos de Pré-Concentração de Arsênio

III.6.1. Testes Preliminares

A configuração do sistema FIA empregado na etapa de pré-concentração está esquematizada na Figura II.2.

Os estudos visando a pré-concentração de arsênio foram baseados no fenômeno de sorção, por meio de extração líquido-sólido. Na etapa de pré-concentração, a retenção seletiva da espécie de interesse pode ser obtida de duas maneiras:⁽¹²³⁾ a) o reagente complexante é adicionado à amostra que contém a espécie em estudo e o complexo formado é retido pelo suporte sólido ou b) a amostra contendo a espécie de interesse passa pelo suporte sólido, modificado com o reagente complexante, e o analito fica retido. A escolha adequada do reagente complexante e do material adsorvente melhoram a sensibilidade e a seletividade necessárias para a determinação de metais, em baixas concentrações.

Assim, para a pré-concentração de arsênio, a amostra passa através de uma mini-coluna contendo o adsorvente modificado ou não com um reagente complexante, permitindo a retenção do analito ou da espécie complexada. Neste trabalho, avaliou-se a potencialidade de alguns *reagentes complexantes* como os derivados de ditiocarbamatos (DTC) e 8-hidroxiquinolina (8-HQ) e, como *suporte sólido*, os adsorventes sílica-gel e alumina.

Os primeiros testes foram realizados baseando-se no trabalho de Karthikeyan et al.,⁽⁹⁶⁾ no qual, segundo os autores, o complexo formado pela reação entre As(III) e ácido 8-hidroxiquinolino sulfônico, em pH 8, foi adsorvido em alumina. A eluição foi feita com HCl 10 %, empregado também como carregador no sistema de injeção em fluxo. Uma vez controlados os parâmetros como vazão e tempo de pré-concentração, um fator de enriquecimento da ordem de 10 vezes foi obtido. Adaptando-se as condições empregadas por Karthikeyan⁽⁹⁶⁾ ao sistema em estudo, os resultados obtidos são apresentados na Tabela III.17, os quais evidenciaram que a pré-concentração não estava

ocorrendo. Pode-se justificar este resultado em função do reagente complexante empregado, a 8-hidroxiquinolina, não ser seletiva ao arsênio no pH de trabalho, e ainda nas diferenças de características da alumina empregada ou do eluente.

Tabela III.17- Condições usadas nos testes iniciais do estudo da pré-concentração
 $[As] = 10 \text{ ng mL}^{-1}$; vazão de pré-concentração = $2,5 \text{ mL min}^{-1}$;
tempo de pré-concentração = 1min; vazão de eluição = $2,8 \text{ mL min}^{-1}$

Teste	Adsorvente	Complexante	Eluente(mol L^{-1})	Observações
I	Al_2O_3 (ácida)	8-HQ (0,02%) em Ac^- , pH 8	HCl 1;0	Sinais de absorvância ao nível do branco
II	8-HQ(0,8%)-sílica gel;	-	HCl 1,0	Sinal analítico p/ As igual à etapa sem a pré-concentração

8-HQ: 8-hidroxiquinolina

A literatura ⁽¹²⁹⁾ mostra que os oxianions de arsênio, bem como As^{+3} e As^{+5} , não formam complexos com o reagente 8-hidroxiquinolina. Assim sendo, no trabalho de Karthikeyan⁽⁹⁶⁾ o grupo sulfônico do reagente utilizado foi o responsável pela sorção do complexo no adsorvente e nos parece aceitável que os sítios ativos da alumina é que são os responsáveis pela sorção dos ânions. Por outro lado, se o mecanismo de complexação com a 8-HQ ocorre, este seria por atração eletrostática, uma vez que este complexante se comporta como um "zwitterion" e não como um ligante bidentado presente em pH neutro.⁽¹²⁴⁾ A 8-hidroxiquinolina é pouco seletiva às espécies químicas, sendo que sua seletividade pode ser melhorada em função do pH do meio reacional. Em pH 8 o As(III) presente em solução encontra-se como ácido arsenioso, HAsO_2 (a representação mais citada na literatura é H_3AsO_3 e o ânion arsenito será considerado neste texto como AsO_3^{3-}). Em pH 8, a 8-hidroxiquinolina apresenta carga negativa e complexa somente os cátions, confirmando a hipótese de que é o próprio adsorvente que atua no processo de sorção. Quando a alumina foi empregada como suporte, os sinais analíticos obtidos estavam ao nível do branco; isto indica que se o arsênio foi retido no material, o eluente selecionado, HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, não foi eficiente, contradizendo a literatura.⁽⁹⁶⁾ Tentativas como o aumento

da concentração do ácido para 1,5 ; 3,0 e 5,0 mol L⁻¹ não forneceram o resultado esperado. A literatura ⁽¹²⁵⁾ mostra uma eficiência superior a 95 % para a retenção de AsO₄⁻³ mas a eluição desta espécie foi de apenas 60 % quando KOH 5 mol L⁻¹ foi empregado, além de resultar na destruição da alumina ácida. O sinal analítico obtido usando sílica modificada com a 8-HQ foi idêntico ao obtido sem a etapa de pré-concentração, mostrando que este reagente não é adequado, nas condições empregadas.

A seguir, investigou-se o comportamento dos derivados de ditiocarbamatos (DTC) no sistema proposto. Estes reagentes são bastante empregados para a pré-concentração de metais, principalmente com as técnicas de FAAS ou GFAAS, uma vez que a eluição da espécie em estudo é geralmente feita com metanol ou etanol. Assim, a pré-concentração do As(III) foi estudada, empregando-se a reação de complexação com NaDDTC e com 4-morfolinaditiocarbamato de amônio (MDTC), nas condições descritas na Tabela III.18.

Tabela III.18 - Emprego de derivados do DTC na pré-concentração de As.
Condições: vazão de pré-concentração=2,5 mL min⁻¹; [As]= 10 µg L⁻¹
tempo de pré-concentração=1 min; massa de adsorvente=100 mg;

Teste	Adsorvente	Complexante	Eluente	Observações
I	Cartucho Sílica-C ₁₈	NaDDTC 0,05%; pH 9,1	HCl 1,0 mol L ⁻¹	Elevados sinais de fundo; ausência de sinal p/As
			EtOH	Alto sinal de fundo; Sinal negativo
			EtOH 10%/ HCl 1,0 mol L ⁻¹	Idem acima
II	Cartucho Sílica C ₁₈	MDTC 0,05%; pH 8,1	HCl 1,0 mol L ⁻¹	Alto sinal de fundo; Ausência de sinal
III	Amberlyst A-26; MDTC	-	HCl 1,0 mol L ⁻¹	Elevado sinal de fundo; Ausência de sinal; não ocorreu pré-concentração

Como pode ser verificado pelos resultados obtidos, este sistema também não foi adequado para a pré-concentração, uma vez que, em todas as condições de trabalho, elevados sinais de fundo foram obtidos devido à decomposição dos derivados de DTC. Para contornar este problema, Sperling et al.⁽⁹⁹⁾ sugerem a introdução de uma etapa de lavagem da coluna com água desionizada, antes da eluição do complexo As(III)-DDTC. A introdução da etapa de lavagem no sistema proposto contornou o problema relativo aos elevados valores de absorvância do sinal de fundo, mas nenhum sinal analítico relativo ao As foi detectado, quando da eluição com HCl 1,0 mol L⁻¹, indicando que, se o complexo ficou retido na coluna, o eluente selecionado foi ineficiente, pois analisando-se o efluente primário, nenhum sinal analítico foi obtido. Por outro lado, na presença do etanol, eluente mais adequado para a eluição do complexo As(III)-DDTC, também não foi obtido nenhum sinal analítico, confirmando as considerações feitas em relação à interferência de etanol, quando da determinação de arsênio em vinhos (Seção III.5.3). Os sinais analíticos negativos foram atribuídos ao elevado sinal de fundo, provenientes da decomposição do reagente, que não são corrigidos pelo corretor de fundo (lâmpada de deutério).

Um novo estudo foi feito empregando-se uma resina de troca aniônica fortemente básica, Dowex 1-X8, na forma de cloreto, em pH 9,2-9,5 para a retenção de As(III), baseando-se no trabalho de Schramel et al.,⁽¹²⁶⁾ que determinaram As total em águas naturais após uma etapa de pré-concentração *on-line*, usando uma coluna contendo um trocador aniônico acoplado ao gerador de hidretos e detecção por ICP OES. Os autores verificaram que a pré-concentração é dependente do estado de oxidação do As e do pH. Em pH 9,2 o As(III) presente na solução está na forma de oxiânion, AsO_3^{-3} , [pKa = 9,2] e o As(V) está presente como HAsO_4^{-2} [pK₁=2,3; pK₂= 6,8; pK₃=11,6]. O As(III) foi quantitativamente retido em torno de pH 9,2, enquanto que o As(V) foi retido em pH neutro. Entretanto, analisando-se as estruturas que coexistem em pH 9,2 (As(III) como AsO_3^{-3} e As(V) como HAsO_4^{-2}), ambas poderiam ser retidas, porém é necessário também considerar a seletividade do trocador aniônico.

É conhecido que as resinas de troca aniônica, na forma cloreto, trocam o ânion cloreto, de grande mobilidade, por outros ânions presentes em solução, existindo uma competição entre os íons pelos sítios da resina. A seletividade dos íons em trocadores deste tipo diminui na seguinte ordem: ⁽¹²⁷⁾



Assim sendo, o ânion AsO_3^{-3} é retido pelo material, sendo desorvido do sistema com a passagem do eluente, ao mesmo tempo em que a resina é regenerada, de acordo com a reação:



onde: $\text{A} = -\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$

III.6.2. Ensaio Definitivos para a Pré-concentração

III.6.2.1. Natureza do Material Adsorvente

Neste trabalho, o adsorvente empregado foi uma resina de troca aniônica fortemente básica, Dowex 1-X8, na forma de cloreto, que é formada por estireno divinil benzeno (DVB), um polímero contendo 8 % de ligações cruzadas. Esta concentração de ligações cruzadas permite o inchamento em soluções aquosas e "íons grandes" podem facilmente difundir através da resina com uma cinética de troca aniônica muito rápida.⁽¹²⁷⁾ O grupo funcional da resina selecionada para a pré-concentração é o cloreto de trimetilamônio $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$ com o ânion lábil, Cl^- . Neste trabalho, foi utilizada uma resina com tamanho de partícula entre 0,071 e 0,149 mm (100-200 mesh), uma vez que tamanhos menores de partícula, entre 200-400 mesh, não ficaram retidos na coluna e obstruíram os condutores do sistema em fluxo. O preenchimento da coluna com a resina foi feito por aspiração de uma suspensão da resina, sendo que um volume de 0,4 mL foi o que propiciou

os melhores sinais analíticos. A massa de resina seca correspondente a este volume é de 50 mg.

Sistemas em fluxo com colunas acopladas para procedimentos *on-line* podem gerar uma elevada pressão no sistema, sendo necessário preencher a coluna com o material adsorvente de forma não muito compactada; o empacotamento a partir de uma suspensão do material evita este problema, e a seleção da granulometria do material adsorvente também é importante para o sucesso do procedimento experimental. ⁽²⁵⁾

III.6.2.2. Efeito da Vazão *versus* Tempo de Pré-concentração

O intervalo selecionado para estudar o parâmetro **vazão de pré-concentração** foi entre 1,8 e 4,2 mL min⁻¹ e avaliou-se **tempos** de 30, 60, 120 e 180 segundos para a pré-concentração. A vazão para a pré-concentração selecionada neste estudo foi de 3,2 mL min⁻¹, a qual não acarretou em vazamentos no sistema em fluxo. A sensibilidade do sinal analítico medido aumenta proporcionalmente com o tempo de pré-concentração até 2 minutos (Figura III.13), não se observando nenhum efeito significativo com um tempo de 3 minutos. Vazões em torno de 1,8 mL min⁻¹ necessitaram de um tempo de pré-concentração muito maior que 2 minutos para propiciar uma boa sensibilidade. Além disso, tempos elevados de pré-concentração aliados a baixas vazões implicam em diminuição da velocidade analítica, aumentando muito o tempo necessário para que todo o ciclo de condicionamento, pré-concentração e regeneração da resina ocorra (~12 min/ciclo). Assim, o melhor sinal analítico para uma solução de 10 µg L⁻¹ de As foi obtido com 2 minutos de pré-concentração e vazão de 3,2 mL min⁻¹. Nestas condições foram necessários em torno de 4 minutos para cada ciclo de pré-concentração.

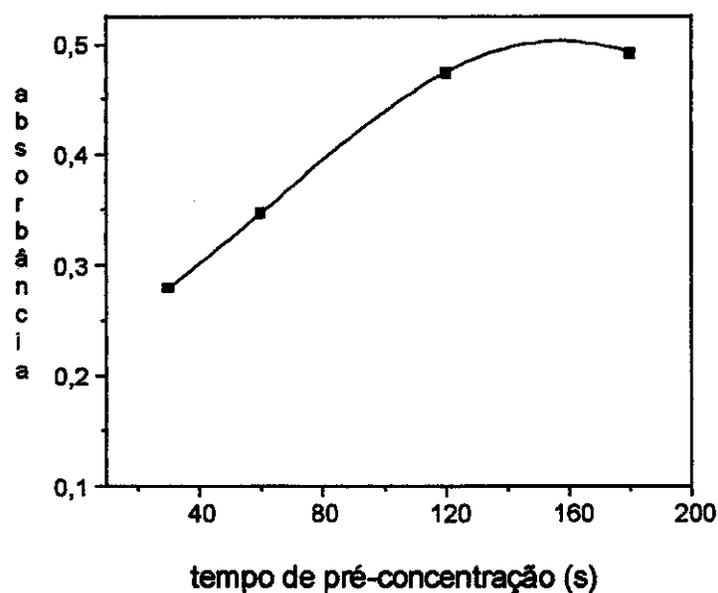


Figura III.13 - Efeito do tempo de pré-concentração no sinal analítico para uma solução de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de arsênio.

III.6.2.3. Efeito da Concentração do Eluente

A literatura⁽¹²⁶⁾ mostra que o ácido clorídrico é o eluente adequado para este sistema, pois além de eluir o AsO_3^{-3} regenera a resina. A faixa de concentração do HCl estudada variou entre $0,5$ e $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ e o intervalo de concentração entre 1 e 3 mol L^{-1} mostrou-se eficiente. A concentração selecionada para a continuidade dos estudos foi de $1,5 \text{ mol L}^{-1}$, procurando-se manter a acidez da solução contendo As semelhante à do carregador.

III.6.2.4. Efeito do Tempo e Vazão para a Eluição

Para a vazão de eluição o intervalo de $1,8$ a $3,2 \text{ mL min}^{-1}$ foi estudado. Vazões baixas de eluição (em torno de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$) necessitaram de um tempo

de cerca de 15 segundos para preencher a alça de amostragem, implicando no decréscimo da velocidade analítica. Com vazões em torno de $3,2 \text{ mL min}^{-1}$, a alça de amostragem foi preenchida em aproximadamente 3 segundos porém, muitas vezes, eram introduzidas bolhas de ar na linha do sistema em fluxo. A vazão de eluição selecionada para a continuidade dos estudos foi de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ com o tempo de eluição de 7 segundos. O parâmetro **tempo de eluição** foi o mais difícil de ser otimizado em função da não repetibilidade operacional, causada pela dificuldade de enxergar o início e o final da eluição. Este parâmetro só foi definido com a introdução da solução tampão $\text{B}_4\text{O}_7^{-2}$ em pH 9,2 contendo uma gota de fenolftaleína, que coloria a resina (rósea). A introdução do eluente descoloria a resina, sendo possível controlar o tempo entre o descolorimento e o preenchimento da alça de amostragem. Por meio do controle visual é que este parâmetro foi determinado.

Antes da eluição, uma etapa de lavagem foi introduzida, com duração de 15 segundos, a qual permite que os ânions AsO_3^{-3} presentes no caminho, até a alça de amostragem, sejam arrastados para o descarte, sem afetar o sinal analítico.

III.6.2.5. Durabilidade do Adsorvente na Coluna de Pré-concentração

Somente após aproximadamente 300 ciclos de pré-concentração é que se observou o amarelamento da resina, com uma pequena diminuição na eficiência de pré-concentração. O material se mostrou bastante tolerante às condições de acidez-basicidade empregadas.

III.6.3. Parâmetros Otimizados para a Pré-concentração de Arsênio

A Tabela III.19 resume os parâmetros operacionais selecionados para a pré-concentração de arsênio.

Tabela III.19 - Condições empregadas no sistema para a pré-concentração de arsênio.

Parâmetro operacional	Condições selecionadas
Faixa de [As] estudada	1 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$
Dimensões da coluna	3,5 x 0,3 cm
Quantidade de resina	0,4 mL (~50 mg)
Tempo para o condicionamento da coluna	1 min
Vazão de pré-concentração	3,2 mL min ⁻¹
Tempo de pré-concentração	2 min
Vazão de eluição	2,5 mL min ⁻¹
Tempo para a eluição	7 s
Tempo de lavagem da coluna antes da eluição	15 s
Durabilidade do adsorvente na coluna	~ 300 ciclos de pré-concentração

III.6.4. Figuras de Mérito para a Pré-concentração

Com a inclusão da etapa de pré-concentração, o sistema mostrou-se linear até 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, observando-se que ocorreu uma melhora significativa na sensibilidade para a determinação de arsênio. Os parâmetros lineares para a curva são: $Y=0,05768+0,07357 [\text{As}]$, com coeficiente de correlação igual a 0,99763. Foi obtido um fator de enriquecimento igual a 6. O limite de detecção, considerando-se a razão entre três vezes o desvio padrão do branco e a sensibilidade, para 10 determinações em triplicata, foi de 96 ng L⁻¹, correspondente a 14 pg de arsênio. O desvio padrão relativo, RSD, calculado a partir de 10 determinações em replicata foi de 3,6% (10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III)). A frequência analítica média, incluindo esta etapa, foi de 15 determinações/hora.

A Figura III.14 mostra as curvas analíticas obtidas para arsênio, com e sem a etapa de pré-concentração.

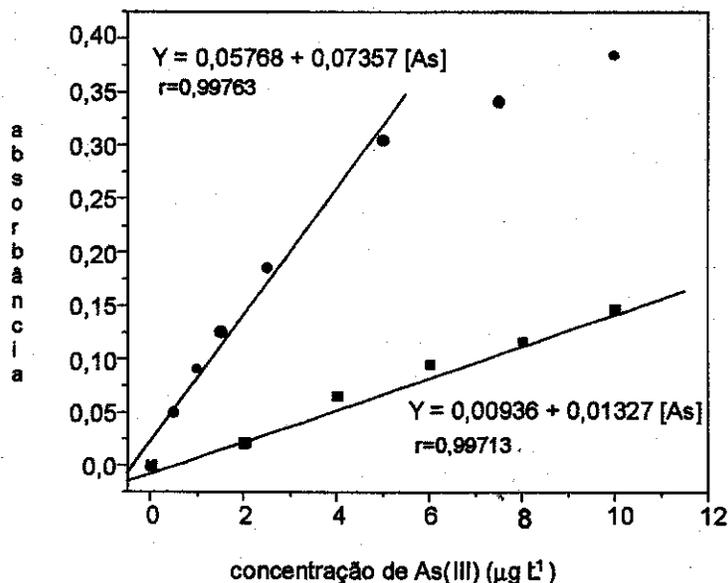


Figura III.14 - Curvas de calibração para As com (•) e sem (▪) a etapa de pré-concentração pelo sistema proposto.

É importante destacar que a introdução da etapa de pré-concentração na metodologia desenvolvida para arsênio permite a sua determinação em concentrações menores que $1 \mu\text{g L}^{-1}$. Com isto, amplia-se a versatilidade do método proposto.

III.6.5. Determinação de Arsênio em Águas Empregando o Sistema de Pré-Concentração

O sistema proposto foi avaliado na determinação de arsênio em amostras de água mineral, água de rio e de galeria de uma mina, estas duas últimas provenientes de Ouro Preto, MG. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela III.20.

Tabela III.20 - Concentração de As ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrado em águas (n=3), incluindo a etapa de pré-concentração.

Amostra	[As] encontrada (ng mL^{-1})
^a Água de Rio	$3,0 \pm 0,1$
Água de Galeria de mina	$4,9 \pm 0,1$
Água Mineral B	-
^b Água Mineral B + As	$2,3 \pm 0,1$
Água Mineral A	$2,0 \pm 0,1$
^b Água Mineral A + As	$4,6 \pm 0,2$

^a amostra diluída 10 vezes;

^b amostra enriquecida com As(III), de modo a fornecer uma concentração igual a $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Os resultados apresentados na Tabela III.20 mostram que o procedimento para a pré-concentração de arsênio em águas, foi eficiente. A recuperação de As nas amostras de água mineral enriquecidas encontra-se entre 90-102%, mostrando que a determinação foi quantitativa. A amostra de água de rio, apresenta um teor de As igual a $30,0 \mu\text{g L}^{-1}$, o qual foi confirmado pelo resultado apresentado na Tabela III.15, em III.5.5. A presença dos ânions nitrato, bicarbonato e sulfato, possíveis interferentes nas amostras de águas, não afetaram o sinal analítico para As. No trabalho de Schramel et al.,⁽¹²⁶⁾ com 0,6 mL de resina, a redução de 10% no sinal analítico só foi verificada para concentrações superiores a $1200 \mu\text{g/g}$ de cloreto; $1500 \mu\text{g/g}$ de sulfato e $1500 \mu\text{g/g}$ de nitrato.

A análise de um material biológico (tecido de ostra), após a sua calcinação empregando $\text{HNO}_3 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, seguida da solubilização das cinzas em HCl diluído e adição de KI / ácido ascórbico 0,5:1 % (m/v), e retomada da solução em $\text{pH} \geq 9,2$, não forneceu nenhum sinal analítico para arsênio quando a solução foi introduzida no sistema de pré-concentração. De acordo com a literatura,⁽¹²⁶⁾ a recuperação para As(V) foi mínima em matrizes que sofreram mineralização com mesclas de ácido mineral, mesmo após a sua total eliminação da solução. Desta forma, o sistema de pré-concentração empregando a metodologia proposta fica limitado à determinação de arsênio em amostras que não necessitam de procedimentos de mineralização, como as amostras de água mineral e águas de superfície e subterrânea.

IV. CONCLUSÕES

O sistema empregado para a determinação de As mostrou simplicidade operacional, baixo custo de confecção do separador e atomizador e manutenção.

A metodologia proposta mostrou versatilidade para a determinação de arsênio em diferentes tipos de amostras.

Os parâmetros que afetam a resposta analítica para a metodologia proposta foram: concentração de NaBH_4 , volume injetado de amostra e do reagente redutor, vazão dos carregadores e do gás de arraste e temperatura de atomização. Destas, a mais crítica é a concentração do redutor, fundamental na produção dos radicais hidrogênio necessários à formação e à atomização da arsina.

Nas condições experimentais otimizadas, a metodologia proposta apresentou um limite de detecção de 340 ng L^{-1} de As (51 pg) com RSD menor que 5% para a faixa linear de trabalho até $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. A frequência analítica com os parâmetros otimizados é de 135 injeções de amostra/hora. A exatidão da metodologia foi avaliada com a análise dos materiais de referência certificado, *Oyster tissue*, *Cod muscle* e *River sediment*, obtendo-se bons resultados.

Amostras biológicas de origem marinha acumulam no seu organismo organocompostos contendo arsênio como a arsenobetaina, que resiste aos procedimentos convencionais de mineralização ácida. O procedimento de calcinação em mufla empregando nitrato de magnésio e ácido nítrico mostrou ser uma alternativa segura e eficiente, comparado ao uso do ácido perclórico, recomendado para a clivagem das ligações nestas amostras. A mineralização destes materiais em fornos de microondas requer ainda um estudo mais aprofundado, uma vez que poucos foram os procedimentos realizados com sucesso.

O estudo de interferentes para o método em questão mostrou que os íons Fe(III), Sb(III) e Se(IV) afetam drasticamente a geração de arsina. Por outro lado, ocorre ainda a interferência de Ni(II), Co(II), Cu(II), Bi(III) e Hg(II) na fase líquida, e de, Sn(II), Sb(V) e Se(VI), na fase gasosa.

A mescla redutora empregada, KI/ácido ascórbico 0,5:1 % (m/v) foi eficiente para minimizar o efeito da maioria dos íons estudados; porém, quando Fe (III) está presente em concentrações elevadas (excesso de 5000 vezes), é necessário alterar a concentração da mesma para teores mais altos, por exemplo, 2:5 %, para sanar a interferência.

A mescla redutora KI/ácido ascórbico também foi eficiente para minimizar o efeito da interferência dos íons Bi(III), Hg(II), Sn(II), Se(IV) e Se(VI). Porém, foi ineficiente para mascarar o efeito dos íons Sb(III), os quais formam espécies diatômicas (AsSb) estáveis à temperatura de atomização da arsina, em torno de 900°C.

Várias amostras foram analisadas, a fim de avaliar a potencialidade da metodologia para a determinação de arsênio em alimentos (peixes, sucos, vinhos e água mineral) e em águas (água de superfície e subterrânea), obtendo-se resultados satisfatórios, independente do tipo de amostra.

O procedimento de calcinação em mufla, empregando nitrato de magnésio e ácido nítrico, foi eficiente para destruir a matéria orgânica das amostras de peixe, mas apresenta o inconveniente do acréscimo de tempo envolvido no tratamento da amostra.

A introdução direta de amostras como os sucos não se mostrou adequada para o sistema FIA-HG-AAS proposto, uma vez que sucos muito viscosos obstruem o sistema FIA e o atomizador empregado não permite a destruição da matéria orgânica presente nestas amostras que pode eventualmente ser arrastada

junto com o hidreto em função da vazão do gás de arraste, ao contrário do que ocorre na etapa de pirólise dos sistemas de atomização eletrotérmica com forno de grafite. A excessiva formação de espuma foi minimizada com um aumento na acidez do meio (HCl 5,0 mol L⁻¹).

Para as amostras de vinhos, o procedimento de introdução direta ocasionou a supressão do sinal analítico, além de elevado sinal de absorção de fundo. Pelos resultados obtidos há fortes evidências de que o vapor etanólico, ao atingir o atomizador, interfere nos equilíbrios entre as espécies radicalares. O efeito causado pelo etanol na geração da arsina, ainda não foi suficientemente estudado na literatura, de tal forma que não é possível afirmar com certeza os mecanismos de reação envolvidos na etapa de atomização. O procedimento empregando a mineralização ácida dos vinhos em forno de microondas foi adequado, fornecendo uma recuperação quantitativa.

Concentrações de arsênio inferiores a 1 µg L⁻¹ podem ser detectadas incluindo-se uma etapa de pré-concentração. O fator de enriquecimento obtido foi igual a 6 na faixa linear de trabalho até 5 µg L⁻¹. O limite de detecção incluindo esta etapa foi de 96 ng L⁻¹, correspondendo a 14 pg de arsênio, com RSD de 3,6% (10 µg L⁻¹). Com a inclusão da etapa de pré-concentração é possível efetuar 15 determinações/hora.

O sistema de pré-concentração empregando uma resina de troca aniônica mostrou-se adequado para a determinação de arsênio em amostras de água. A interferência de sulfato, cloreto, carbonato e bicarbonato, presentes nestas amostras, não foi observada. Ao analisar o material biológico tecido de ostra, após a calcinação em mufla, nenhum sinal analítico foi obtido. Isto mostra que o sistema de pré-concentração empregando o trocador iônico limita-se à amostras como água mineral e água de rio.

A pré-concentração de As, empregando agentes complexantes como os derivados de ditiocarbamatos, não forneceram os resultados esperados, uma vez que os complexos formados com esta classe de compostos químicos devem ser eluídos ou desorvidos com solventes orgânicos como os álcoois, os quais causam uma severa interferência na determinação de As pela metodologia proposta.

Procedimentos para a pré-concentração de arsênio empregando outros reagentes e materiais sorventes já estão sendo testados em nosso laboratório; alternativamente a este estudo procedimentos empregando a pré-concentração da fase gasosa podem ser também objetos de investigação.

A automação do sistema FIA-HG-AAS pode torná-lo mais atrativo aos laboratórios de análise de rotina.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MERIAN, E., "Metals and their Compounds in the Environment", VHC Verlag, Weinheim, 1991.
2. FORSTNER, U. and WILLIAN, G. J. W., "Metal Pollution in the Aquatic Environment", Springer-Verlag, Berlin, 1982.
3. LUOMA, S.N., "Bioavailability of Trace Metals to Aquatic Organisms- A review". *Sci. Total Environm.*, **28**, 1983,1-22.
4. WELZ, B., "Atomic Absorption Spectrometry". 2nd ed., Springer-Verlag, Weinheim, 1985, p. 69-75; 227-244.
5. HANUSCH, K.; GROSSMANN, H; HEBERT, K.A. and ROSE, G., "Arsenic and Arsenic Compounds" in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, vol. A3, 5th. ed. rev., edited by W. Gerhartz, VHC, Verlag, Weinheim, 1985, p. 113-141.
6. DOAK, G.O.; GILBERT LONG, G. and FREEDMAN, L.D., "Arsenic and Arsenic Compounds" in Encyclopedia of Chemical Technology", vol. A3, 3rd ed., John Wiley & Sons, New York, 1978, p.243-266.
7. NRIAGU, J. O., "Arsenic in the Environment. Part I: Cycling and Characterization" in Advances in Environmental Science and Technology, vol. 26, John Wiley & Sons, New York, 1994.
8. PEREIRA, S.F.; SARAIVA, A.C.; FIGUEIREDO, A.F. e SALGADO, H.L., "Contaminação por Arsênio em Pessoas Residentes às Margens do Rio Amazonas (Vila do Elesbão-Santana-Amapá)". Livro de Resumos do 11^o ENQA- Encontro Nacional de Química Analítica. Campinas, SP, 2001, resumo AB-12.
9. NRIAGU, J. O., "Arsenic in the Environment. Part II: Human Health and Ecosystem Effects" in Advances in Environmental Science and Technology, vol. 26, John Wiley & Sons, New York, 1994.
10. BARRA, C.M.; SANTELLI, R.E.; ABRÃO, F.J. e de la GUARDIA, M., "Especiação de Arsênio – Uma Revisão". *Quim. Nova*, **23**, 2000, 58-70.
11. MAHAN, B.H., "Química, um Curso Universitário", segunda edição revisada, Editora Edgard Blücher, São Paulo, 1980.
12. "Armas Químicas" Revista Eletrônica do Departamento de Química, UFSC, ano2, # 45 - <http://qmcweb/qmc.ufsc.br>

13. CANTO, E.L. e PERUZZO, T.M., "Química na Abordagem do Cotidiano", vol. III, Editora Moderna, São Paulo, 1996.
14. "Água Contaminada com Arsênico Envenena 18 milhões na Ásia" . Folha de São Paulo, Caderno 1, 13/08/1988, p. 14 (tradução de Luís Eblak).
15. DAS, D.; CHATTERJEE, A.; SAMANTA, G.; MANDAL, B.; CHOWDHURY, T.R.; CHOWDHURY, P.P; CHANDA, C.; BASU, G.; LODH, D.; NANDI, S.; CHAKRABORTY, T; MANDAL, S; BHATTCHARYA, S.M. and CHAKRABORTY, D., "Arsenic Contamination in Groundwater in Six Districts of West Bengal India: The Biggest Arsenic Calamity in the World". *Analyst*, **116**,1994, 168N-170N.
16. REILLY, C., "Metal Contamination of Foods", 2nd ed., Elsevier, London, 1991.
17. MATSCHULLAT, J.; BORBA, R. P.; DESCHAMPS, E.; FIGUEIREDO, B. R., GABRIO, T. and SCHWENK, M., "Human and Environmental Contamination in the Iron Quadrangle, Brazil". *Appl. Geochem.*, **15**, 2000, 193-202.
18. BORBA, R. P.; FIGUEIREDO, B. R.; RAWLINS, B. and MATSCHULLAT, J., "Arsenic in Water and Sediment in the Iron Quadrangle, State of Minas Gerais, Brazil". *Rev. Bras. Geociênc.*, **30**, 2000, 554-557.
19. TSALEV, D.L. and ZAPRIANOV, Z.K., "Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice" vol. I: Analytical Aspects and Health Significance, CRC Press, Boca Raton, 1984, p.4-41.
20. TSALEV, D.L. and ZAPRIANOV, Z.K., "Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice" vol. II: Determination of Individual Elements, CRC Press, Boca Raton, 1984, p.13-22.
21. HERSHEY, J.W. and KELIHER, P.N., " Observations on Arsenic and Selenium Determinations Using Hydride Generation Atomic Absorption and/or Plasma Emission Spectrometry". *Appl. Spectrosc. Rev.*, **25**, 1989-90, 213-228.
22. WALSH, A., " The Application of Atomic Absorption Spectra to Chemical Analysis". *Spectrochim. Acta*, **7**, 1955, 108-117.
23. L'VOV, B.V., "The Analytical Use of AAS". *Spectrochim. Acta*, **17**, 1961, 761-770.
24. da SILVA, J.B.B.; GIACOMELLI, M.B.O.; SOUZA, I.G. and CURTIUS, A. J., "Iridium and Rhodium as Permanent Chemical Modifiers for the Determination of Ag, As, Bi, Cd and Sb by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry". *Microchem. J.*, **60**, 1998, 249-257.
25. FANG, Z., "Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry". John Wiley & Sons, Chichester, 1995.

26. VOGEL, A. I., "Análise Química Quantitativa" 5^a ed., LTC Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, cap. 7, p. 549-551, 1992.
27. HOLAK, W., "Gas Sampling Technique for Arsenic Determination by AAS". *Anal. Chem.*, **41**, 1969, 1712-1713.
28. GODDEN, R.G. and THOMERSON, D.R., "Generation of Covalent Hydrides in Atomic Absorption Spectroscopy: A Review". *Analyst*, **105**, 1980, 1137-1156.
29. FERNANDEZ, F.J. and MANNING, D.C., "A High Sensitivity Arsenic-Selenium Sampling System for AAS". *At. Absorp. Newsl.*, **10**, 1971, 123-124.
30. YAMAMOTO, Y.; KUMAMARU, T.; HAYASHI, Y. and KAMADA, T., "Rapid and Sensitive Atomic-Absorption Determination of Arsenic by Arsine-Argon-Hydrogen Flame System with Use of a Zinc Powder Tablet as Reductant". *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **46**, 1973, 2604-2605.
31. LICHTER, F.E. and SKOGERBOE, R. K., "Emission Spectrometric Determination of Arsenic". *Anal. Chem.*, **44**, 1972, 1480-1482.
32. POLLOCK, E.N. and WEST, S.J., "The Determination of Antimony at Submicrogram Levels by Atomic Absorption Spectrophotometry". *At. Absorp. Newsl.*, **10**, 1971, 92-96.
33. ROBINS W. G. and CARUSO J. A., "Development of Hydride Generation Methods for Atomic Spectroscopic Analysis". *Anal. Chem.*, **51**, 1979, 889N-894N.
34. BRAMAN, R. S.; JUSTEN, L. L. and FOREBACK, C. C., "Direct Volatilization-Spectral Emission Type Direction System for Nanograms of Arsenic and Antimony". *Anal. Chem.*, **44**, 1972, 2195-2199.
35. SCHMIDT, F. J. and ROYER, J. L., "Sub-microgram Determination of Arsenic, Selenium, Antimony and Bismuth by Atomic Absorption Utilizing Sodium Borohydride Reduction". *Anal. Lett.*, **6**, 1973, 17-23.
36. TSALEV, D.L., "Hyphenated Vapour Generation Atomic Absorption Spectrometric Techniques". *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**, 1999, 147-162.
37. SOUSA, C.S e KORN, M., "Formação do Hidreto de Arsênio Assistida por Ultra-som" Livro de Resumos do 11^o ENQA- Encontro Nacional de Química Analítica. Campinas, SP, 2001, resumo EM-20.
38. CHU, R. C.; BARRON, G. P. and BAUMGARNER, P. A. W., "Arsenic Determination at Sub-microgram Levels by Arsine Evolution and Flameless AAS Technique". *Anal. Chem.*, **44**, 1972, 1476-1479.

39. CADORE, S., "Determinação de Bismuto Empregando um Sistema de Análise por Injeção em Fluxo com Geração de Hidreto e Espectrometria de Absorção Atômica". Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, SP, 1991.
40. CADORE, S. and BACCAN, N., "Continuous Hydride Generation System for the Determination of Bismuth in Metallurgical Materials by Atomic Absorption Spectrometry Using an On-line Stripping-type Generator/Gas-liquid Separator". *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**, 1997, 637-642.
41. SKEGGS, L.T., "An Automatic Method for Colorimetric Analysis". *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 1957, 311-322.
42. RUZICKA, J. and HANSEN, E.H., "Flow Injection Analysis". John Wiley & Sons, New York, 1981.
43. ASTRÓM, O., "Flow Injection Analysis for the Determination of Bismuth by Atomic Absorption Spectrometry with Hydride Generation". *Anal. Chem.*, **54**, 1982, 190-193.
44. LIVERSAGE, R. R.; VAN LOON, J.C. and de ANDRADE, J.C., "A Flow Injection/Hydride Generation System for the Determination of Arsenic by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **161**, 1984, 275-283.
45. WELZ, B. and SCHUBERT-JACOBS, M., "Evaluation of a Flow Injection System and Optimization of Parameters for Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". *At. Spectrosc.*, **12**, 1991, 91-104.
46. JIMENEZ DE BLAS, O.; RODRIGUEZ-MATEOS, N. and GARCIA-SANCHEZ, A., "Determination of Total Arsenic and Selenium in Soils and Plants by Atomic Absorption Spectrometry with Hydride Generation and Flow-injection Analysis Coupled Techniques". *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **79**, 1996, 764-768.
47. TORRALBA, R.; BONILLA, M.; PALACIOS, A. and CAMARA, C., "Flow-injection Analysis and Continuous-flow Systems to Determine As(III) and As(V) by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". *Analisis*, **22**, 1994, 478-482.
48. SARASWATI, R.; VETTER, T. W. and WATTERS, R. L. Jr., "Determination of Arsenic, Selenium, and Mercury in an Estuarine Sediment Standard Reference Material Using Flow-injection and Atomic Absorption Spectrometry". *Mikrochim. Acta*, **118**, 1995, 163-175.
49. SARASWATI, R. and WATTERS, R. L. Jr., "Determination of Arsenic and Selenium in Spinach and Tomato Leaves Reference Materials Using Flow-injection and Atomic Absorption Spectrometry". *Talanta*, **41**, 1994, 1785-1790.

50. JIMENEZ DE BLAS, O.; VICENTE-GONZALEZ, S.; MUNOZ-GARRIDO, R.; MARTIN-PASCUAL, A. and SANCHEZ-MARTIN, M. A., "Speciation and Determination of Arsenic and its Metabolites in Urine by Atomic Absorption Spectrometry with Hydride Generation and other Coupled Techniques". *Quim. Anal.*, **13**, 1994, 138-143.
51. TYSON, J.F.; OFFLEY, S.G.; SEARE, N.J.; KIBBLE, H.A.B. and FELLOWS, C., "Determination of Arsenic in a Nickel-based Alloy by Flow-injection Hydride generation -Atomic Absorption Spectrometry Incorporating Continuous Flow-Matrix Isolation and Stopped-Flow Pre-reduction Procedures". *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 1992, 315-322.
52. BETTINELLI, M.; SPEZIA, S.; BARONI, U. and BIZZARRI, G., "GF-AAS and FI-HG-AAS Determination of Arsenic, Bismuth, Antimony and Selenium in Steels and Nickel Alloys". *At. Spectrosc.*, **15**, 1994, 115-121.
53. VIJAN, P.N. and WOOD, G.R., "Semi-automated Determination of Lead by Hydride Generation and Atomic Absorption Spectrometry". *Analyst*, **101**, 1976, 966-973.
54. YAMAMOTO, M.; TAKADA, K.; KUMAMARU, T.; YASUDA, M.; YOKOYAMA, S. and YAMAMOTO, Y., "Membrane Gas-Liquid Separator for Flow Injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". *Anal. Chem.*, **59**, 1987, 2446-2448.
55. PACEY, G.E.; STRAKA, M.R. and GORD, J.R., "Dual Phase Gas Diffusion Flow Injection Analysis/ Hydride Generation AAS". *Anal. Chem.*, **58**, 1986, 502-504.
56. LUNA, A.S., "New Prospects for Chemical Vapor Generation: Atomic Absorption by Ag, Au, Cu, Zn Following Reduction of Aquo-ions with Sodium Tetrahydroborate (III)". Tese de Doutorado, PUC-Rio, RJ; 2000.
57. WELZ, B.; SCHUBERT-JACOBS, M.; SPERLING, M; STYRIS, D.I. and REDFIELD, D.A., "Investigations of Reactions and Atomization of Arsine in a Heated Quartz Tube Using AAS-MS". *Spectrochim. Acta*, **45B**, 1990, 1235-1256.
58. DEDINA, J. and RUBESKA, I., "Hydride Atomization in a Cool Hydrogen-Oxygen Flame Burning in a Quartz Tube Atomizer." *Spectrochim. Acta*, **35B**, 1980, 119-128.
59. WELZ, B. and MELCHER, M., "Investigations an Atomization Mechanisms of Volatile Hydride- Forming Elements in a Heated Quartz Cell. Part 1". *Analyst*, **108**, 1983, 213-224.
60. BAX, D.; VAN ELTEREN, J.T. and AGTERDENBOS, J., "The Determination of Arsenic with Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. A Study of the

Factors Influencing the Reactions in the Absorption Cuvette". *Spectrochim Acta.*, **41B**, 1986, 1007-1010.

61. AGTERDENBOS, J. and BAX, D., "Mechanisms in Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **323**, 1986, 783-787.

62. TESFALIDET, S.; WILKANDER, G. and IRGUN, K., "Determination of Hydrogen Radicals in Analytical Flames Using Electron Spin Resonance Spectrometry Applied to Direct Investigations of Flame Based Atomization Units for Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". *Anal. Chem.*, **71**, 1999, 1225-1231.

63. DEDINA, J., "Interference of Volatile Forming Elements in the Selenium Determination of Atomic Absorption Spectrometry with Hydride Generation". *Anal. Chem.*, **54**, 1982, 2097-2102.

64. KANG, H.K. and VALENTINE, J.L., "Acid Interference in the Determination of Arsenic by Atomic Absorption Spectrometry". *Anal. Chem.*, **49**, 1977, 1829-1832.

65. BROWN, R.M.; FRY, R.C.; MOYERS, J.L.; NORTHWAY, S.J.; DENTON, M. B. and WILSON, G.S., "Interference by Volatile Nitrogen Oxides and Transition-metal Catalysis in the Preconcentration of Arsenic and Selenium as Hydrides". *Anal. Chem.*, 1981, **53**, 1560-1566.

66. SMITH, A.E., "Interferences in the Determination of Elements the Form of Volatile Hydrides with Sodium Borohydride Using Atomic Absorption Spectrometry and the Argon - Hydrogen Flame". *Analyst*, **100**, 1975, 300-306.

67. PIERCE, F.D. and BROWM, H.R., "Inorganic Interference Study of Automated Arsenic and Selenium Determination with AAS". *Anal. Chem.*, **48**, 1976, 693-695.

68. FERNANDEZ, F.J., "Atomic Absorption Determination of Gaseous Hydrides Utilizing Sodium Borohydride Reduction". *At. Absorp. Newsl.*, **12**, 1973, 93-97.

69. KIRKBRIGHT, G. F. and TADDIA, M., "Application of Masking Agents in Minimizing Interferences from Some Metal Ions in the Determination of Arsenic Atomic Absorption Spectrometry with the Hydride Generation Technique". *Anal. Chim. Acta*, **100**, 1978, 145-150.

70. THOMPSON, K.C. and THOMERSON, D.R., "Atomic Absorption Studies on the Determination of Antimony, Arsenic, Bismuth, Germanium, Lead, Selenium, Tellurium and Tin by Utilising the Generation of Covalent Hydride". *Analyst*, **99**, 1974, 595-601.

71. SIEMER, D.D.; KOTEEL, P. and JARIWALA, V., "Optimization of Arsine Generation in Atomic Absorption Arsenic Determination". *Anal. Chem.*, **48**, 1976, 836-840.

72. HENG-WU CHEN; BRINDLE, I. D. and XIAO-CHUN LE., "Prereduction of As(V) and As(III), Enhancement of Signal, and Reduction of Interferences by L-cysteine in the Determination of Arsenic by Hydride Generation". *Anal. Chem.*, **64**, 1992, 667-672.
73. WELZ, B. and SUCMANOVÁ, M., "L-cysteine as Reducing and Releasing Agent for the Determination of Antimony and Arsenic Using Flow Injection Hydride Generation and Atomic Absorption Spectrometry. Part I: Optimization of Analytical Parameters ". *Analyst*, **118**, 1993, 1417-1423.
74. WELZ, B. and SUCMANOVÁ, M., "L-cysteine as Reducing and Releasing Agent for the Determination of Antimony and Arsenic Using Flow Injection Hydride Generation and Atomic Absorption Spectrometry. Part II: Interferences Studies and the Analysis of Copper and Steel". *Analyst*, **118**, 1993, 1425-1432.
75. GUO, T.; BASNER, J. and TSALEV, D. L., "Fast Automated Determination of Toxicologically Relevant Arsenic in the Urine by Flow Injection-Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **349**, 1997, 313-318.
76. SHARIN, A.; CHISWELL, B. and OLSZOWY, H., "Speciation of Arsenic by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry in Hydrochloric Acid Reaction Medium". *Talanta*, **50**, 1999, 1109-1127.
77. DITTRICH, K. and MANDRY, R., "Investigations into the Improvement of the Analytical Application of the Hydride Technique in Atomic Absorption Spectrometry by Matrix Modification and Graphite Furnace Atomization. Part II: Matrix Interference in the Gaseous Phase of Hydride Atomic Absorption Spectrometry". *Analyst*, **111**, 1986, 277-280.
78. FIORINO, J. A.; JONES, J. W. and CAPAR, S.G., "Sequential Determination of Arsenic, Selenium, Antimony, and Tellurium Foods via Rapid Hydride Evolution and Atomic Absorption Spectrometry". *Anal. Chem.*, **48**, 1976, 120-125.
79. PEACOCK, C.J. and SINGH, S.C., "Inexpensive, Simple Hydride Generation System with Minimum Interferences for Atomic Absorption Spectrometry of Arsenic". *Analyst*, **106**, 1981, 931-938.
80. HOWARD, A. G. and ARBAB-ZAVAR, M.H., "Determination of "Inorganic" Arsenic III and Arsenic V, Methylarsenic and Dimethylarsenic Species by Selective Hydride Evolution Atomic Absorption Spectroscopy". *Analyst*, **106**, 1981, 213-220.
81. NAKAHARA, T., "Application of Hydride Generation to the Determination of Trace Concentration of Arsenic by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **131**, 1981, 73-82.
82. de La CALLE-GUNTIÑAS, M.B.; R. TORRALBA, R.; MADRID, Y.; PALACIOS, M.A.; BONILLA, M. and CÁMARA, C., "A Study of Hydride Forming Elements in

the Determination of As by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry and Minimization of Sb and Se Interference by α -Hydroxyacids and KI". *Spectrochim. Acta*, **47B**, 1992, 1165-1172.

83. ARBAB-ZAVAR, M.H. and HOWARD, A.G., "Automated Procedure for the Determination of Soluble Arsenic Using Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". *Analyst*, **105**, 1980, 744-750.

84. WOLNIK, K. A.; FRICKE, F. L.; HAHN, M. H. and CARUSO, J. A., "Sample Introduction System for Simultaneous Determination of Volatile Elements and Other Elements in Foods by Inductively Coupled Argon Plasma Emission Spectrometry". *Anal. Chem.*, **53**, 1981, 1030-1035.

85. JONES, J.W.; CAPAR, S.G. and O'HAVER, T.C., "Critical Evaluation of a Multi-element Scheme Using Plasma Emission and Hydride Evolution Atomic Absorption Spectrometry for the Analysis of the Plant and Animal Tissue". *Analyst*, **107**, 1982, 353-377.

86. KINGSTON, H. M.; BARNES, I. L.; RAINS, T. C. and CHAMP, M. A., "Separation of Eight Transition Elements from Alkali and Alkaline Earth Elements in Estuarine and Seawater with Chelating Resin and their Determination by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry". *Anal. Chem.*, **50**, 1978, 2064-2070.

87. HERSHEY, J. W. and KELIHER, P. N., "Some Atomic Absorption Hydride Generation Inter-element Interference Reduction Studies Utilizing Ion Exchange Resins". *Spectrochim. Acta*, **44B**, 1989, 329-337.

88. ALFASSI, Z. B. and WAI, C. M., "Preconcentration Techniques for Trace Elements". CRC Press, Boca Raton, 1992.

89. COLLINS, C. H., BRAGA, G. L. e BONATO, P.S., "Introdução a Métodos Cromatográficos", 7^a. ed., Campinas, SP, Editora da Unicamp, 1997.

90. ABRAZHEEV, R.V. and ZORIN, A.D., "Extraction of Trace Arsenic from Neutral Aqueous Solutions with Anion-Exchange Resins". *J. Anal. Chem.*, **54**, 1999, 1251-1253.

91. POZEBON, D.; DRESSLER, V.L.; GOMES NETO, J.A. and CURTIUS, A.J., "Determination of Arsenic (III) and Arsenic(V) by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry after Complexation and Sorption on a C₁₈ Bonded Silica Column". *Talanta*, 1998, **45**, 1167-1175.

92. YAN, X.P., SPERLING, M. and WELZ, B., "On-line Coupling of Flow Injection Microcolumn Separation and Preconcentration to Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry for Determination of (Ultra)Trace Selenite and Selenate in Water". *Anal. Chem.*, **71**, 1999, 4353-4360.

93. TIKHOMIROVA, T.I. and FADEEVA, V.I., "Preconcentration of Copper(II) and Arsenic (III) Diethyldithiocarbamates on Silica Chemically Modified with Hexadecyl Groups". *J. Anal. Chem.*, **52**, 1997, 203-205.
94. GIACOMELLI, M.B.O.; DA SILVA, J.B.B. and CURTIUS, A.J., "Determination of As and Sb in Steels by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry after Reduction, Complexation and Sorption on Activated Carbon". *Mikrochim. Acta*, **132**, 1999, 25-29.
95. KUBOTA, T.; YAMAGUCHI, T. and OKUTANI, T., "Determination of Arsenic Content in Natural Water by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry after Collection as Molybdoarsenate on Activated Carbon". *Talanta*, **46**, 1998, 1311-1319.
96. KARTHIKEYAN, S.; PRASADA RAO, T. and IYER, C.S.P., "Determination of Arsenic in Sea Water by Sorbent Extraction with Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". *Talanta*, 1999, **49**, 523-530.
97. MOROSANOVA, E.; VEIKORODNY, A. and ZOLOTOV, Y., "New Sorbents and Indicator Powders for Preconcentration and Determination of Traces Metals in Liquid Samples". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **361**, 1998, 305-308.
98. STURGEON, R.E.; WILLIE, S.N.; SPROULE, G.E.; ROBINSON, P.T. and BERMAN, S.S., "Sequestration of Volatile Element Hydrides by Platinum Group Elements for Graphite Furnace Atomic Absorption". *Spectrochim. Acta*, **44B**, 1989, 662-682.
99. SPERLING, M.; XUEFENG YIN and WELZ, B., "Differential Determination of As III and Total Arsenic Using Flow-Injection on-Line Separation and Preconcentration for GF-AAS". *Spectrochim. Acta*, **46B**, 1991, 1798-1801.
100. SAMANTA, G.; CHOWDHURY, T.R.; MANDAL, B.K.; BISWAS, B.K.; CHOWDHURY, U.K.; BASU, G.K.; CHAND, C.R.; LODH, D. and CHAKRABORTI, D., "Flow-injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry for the Determination of Arsenic in Water and Biological Samples from Arsenic-Affected Districts of West Bengal, India and Bangladesh". *Microchem. J.*, 1999, **62**, 174-191.
101. YAN, X.P.; KERRICH, R. and HENDRY, M.J., "Determination of (ultra) Trace Amounts of Arsenic (III) and Arsenic (V) in Water by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Coupled with Flow Injection on-Line Sorption Preconcentration and Separation in a Knotted Reactor". *Anal. Chem.*, **70**, 1998, 4736-4742.
102. GOMES NETO, J. A., MONTES, R. and CARDOSO, A. A., "Spectrophotometric Detection of Arsenic Using Flow-Injection Hydride Generation Following Sorbent Extraction Preconcentration". *Talanta*, **50**, 1999, 959-966.

- 103.** NIELSEN, S.; SLOTH, J.J. and HANSEN, E.H., "Determination of ultra-Trace Amounts of As(III) by Flow-Injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry with Preconcentration by Coprecipitation with Lanthanum Hydroxide or Hafnium Hydroxide". *Talanta*, **43**, 1996, 867-880.
- 104.** SMICHOWSKI, P.; MARRERO, J.; LEDESMA, A.; POLLA, G. and BATISTONI, D.A., "Speciation of As (III) and As(V) in Aqueous Solutions Using Baker's Yeast and Hydride Generation Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometric Determination". *J. Anal. At. Spectrom.*, **15**, 2000, 1493-1497.
- 105.** FANG, Z.; XU, S. and ZHANG, S., "Fundamental and Practical Considerations in the Design of On-line Column Preconcentration for Flow-Injection in Atomic Spectrometric Systems". *Anal. Chim. Acta*, **200**, 1987, 35-49.
- 106.** 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, SP, 1995.
- 107.** BERGAMIN F^o., H; ZAGATTO, E. A S.; KRUG, F.J. and REIS, B.F., "Merging Zones in Flow Injection Analysis. Part 1: Double Proportional Injector and Reagent Consumption". *Anal. Chim. Acta*, **101**, 1978, 17-23.
- 108.** LEBLAND, P. J. and JACKSON, A. L., "Dry Ashing Technique for the Determination of Arsenic in Marine Fish". *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **56**, 1973, 383-386.
- 109.** ALVES, F. L.; CADORE, S. ; JARDIM, W. F. and ARRUDA, M. A. Z., "River Sediment Analysis by Slurry Sampling FAAS: Determination of Copper, Zinc and Lead". *J. Braz. Chem. Soc.*, **12**, 2001, 799-803.
- 110.** GOLDBERG, D.E., "Genetic Algorithms in Search, Optimization and Machine Learning"; Addison-Wesley; Reading; 1989.
- 111.** WELZ, B. and MELCHER, M., "Determination of Selenium in Nickel Based Materials by Hydride Generation". *Analyst*, **109**, 1984, 569-572.
- 112.** ÜMITH, A. and HENDEN, E., "Interferences in the Quartz Tube Atomizer During Arsenic and Antimony Determination by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". *Spectrochim. Acta*, **55B**, 2000, 951-958.
- 113.** MAGALHÃES, C.E.C. e ARRUDA, M.A.Z., "Amostragem de Suspensões: Emprego da Técnica na Análise Direta da Amostra". *Quim. Nova*, **21**, 1998, 459-466.

- 114.** VILANÓ, M. and RUBIO, R., "Determination of Arsenic in Seafood by Focused Microwave Digestion and Hydride Generation-Atomic Fluorescence Detection". *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, **84**, 2001, 551-555.
- 115.** YBÁÑEZ, N.; CERVERA, M. L.; MONTORO, R. and de la GUARDIA, M., "Comparison of Dry Mineralization and Microwave-oven Digestion for the Determination of Arsenic in Mussel Products by Platform in Furnace Zeeman-Effect Atomic Absorption Spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **6**, 1991, 379-384.
- 116.** BRASIL, MINISTÉRIO da SAÚDE. Secretaria da Vigilância Sanitária. Decreto nº 55.871/65, D.O.U. de 29/05/1965, seção I, parte I;
- 117.** BRASIL, MINISTÉRIO da SAÚDE. Secretaria da Vigilância Sanitária. Portaria nº 685/98 da Secretaria de Vigilância Sanitária, D.O.U. de 27/08/1998, Brasília, 24/09/98, Seção 1, pg.1-4.
- 118.** AMERINE, M.A and OUGH, C.S., "Methods for Analysis of Musts and Wines" John Wiley & Sons Inc., New York, 1980.
- 119.** SEGURA, M; MADRID, Y. and CÁMARA, C., "Evaluation of Atomic Fluorescence and Atomic Absorption Spectrometric Techniques for the Determination of Arsenic in Wine and Beer by Direct Hydride Generation Sample Introduction". *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**, 1999, 131-135.
- 120.** CACHO, J.; FERREIRA, V. and NERÍN, C., "Determination of Lead in Wines by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". *Analyst*, **117**, 1992, 31-33.
- 121.** BRUNO, S.N.F.; CAMPOS, R.C. and CURTIUS, A.J., "Determination of Lead and Arsenic in Wines by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 1994, 341-344.
- 122.** AMORIM Fº, V.R; FERNANDES, K.G; MORAES, M. e GOMES NETO, J.A., "Um Método para a Determinação Simultânea de Cd, Cr, Ni e Pb em Águas Minerais por GF AAS". Livro de Resumos do 11ºENQA- Encontro Nacional de Química Analítica, Campinas, SP, 2001, resumo EA-6.
- 123.** PORTA, V.; SARAZANINI, C.; ABOLLINO, O.; MENTASTI, E. and CARLINI, E., "Preconcentration and Inductively Coupled Plasma Atomic emission Spectrometric Determination of Metal Ion with On-line Chelating Ion Exchange". *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 1992, 19-22.
- 124.** CHENG, K.L.; UENO, K. and IAMAMURA, T., "Handbook of Organic Analytical Reagents". CRC Press, Boca Raton, 1982; 253-267.

- 125.** COOK, I.G.; McLEOD, C.W. and WORSFOLD, P.J., "Use of Activated Alumina as a Column Packing Material for Adsorption of Oxyanions in Flow Injection Analysis with ICP-AES Detection". *Anal. Proceedings*, **23**, 1986, 5-6.
- 126.** SCHRAMMEL, P. and LI-QIANG Xu., "On Line Preconcentration of Arsenic from Water Samples with an Anion-Exchanger Column Coupled to a Hydride Generation ICP System". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **343**, 1992, 373-377.
- 127.** MARHOL, M. "Ion Exchangers in Analytical Chemistry; their Properties and Use in Inorganic Chemistry" in *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. XIV, edited by G. Svehla, Elsevier, Amsterdam, 1982.
- 128.** dos SANTOS, E.J. and de OLIVEIRA, E., "Evaluation and Establishment of the Digestion Procedure of Soluble Coffee for Nutrient and Inorganic Contaminants Determination by ICP-AES Analysis". *Arq. Biol. Tecnol.*, **40**, 1997, 632-641.
- 129.** SANDELL, E.B. and ONISHI, H. "Photometric Determination of Trace of Metals- General Aspects". *Chemical Analysis, Part I*; vol. 3 of *Colorimetric Determination of Trace of Metals*, Fourth Ed., John Wiley & Sons., New York, 1978, chapter 6D, 415-448.

VI. ANEXOS

VI.1. Tratamento do Resíduo de Arsênio

- Neutralizar o resíduo ácido contendo arsênio; manter o pH em 7; se estiver levemente básico, neutralizá-lo com ácido sulfúrico 1 mol L^{-1} ;

- Preparar uma solução de sulfeto de sódio (78 g L^{-1}), e ir adicionando-a lentamente, mantendo o pH em 7 (controlar o pH com a adição de gotas de fenolftaleína); para que a precipitação do As_2S_3 ocorra o pH deve ser iguala 7;

- Decantar e filtrar; o resíduo sólido contendo sulfeto de arsênio é embalado e enviado à comissão de segurança do IQ para o destino final; água mãe originária desta filtração deve ser tratada pois contém excesso de sulfeto de sódio;

- Tratamento da água mãe:

– Efetuar o teste de chama: se a chama se tornar azul, é indicativo da presença de As. Repetir o procedimento anterior até teste negativo.

– O excesso de sulfeto de sódio presente na água mãe será empregado no descarte de outros metais gerados no laboratório, como Co, Cu, Ni...Caso não existam outros metais pode-se empregar um sal de ferro, como cloreto ou sulfato.

–Para o tratamento da água mãe, elevar o pH com NaOH, a fim de precipitar os outros metais como hidróxido ou então como sulfeto, porém em meio básico; decantar e filtrar; o resíduo sólido deve ser encaminhado para o descarte e o líquido pode ser descartado na pia.

VI.2. Valores Certificados dos Elementos Constituintes do Material de Referência *Oyster Tissue 1566*^a (NIST)

Tabela VI.1- Valores certificados dos elementos constituintes da amostra tecido de ostra

Elemento	Valor certificado \pm incerteza
Ca	0,196 \pm 0,019 ^a
Cl	0,829 \pm 0,014 ^a
Mg	0,118 \pm 0,017 ^a
P	0,623 \pm 0,018 ^a
K	0,790 \pm 0,047 ^a
Na	0,417 \pm 0,013 ^a
S	0,862 \pm 0,019 ^a
Al	202,5 \pm 12,5 ^b
As	14 \pm 1,2 ^b
Cd	4,15 \pm 0,38 ^b
Cr	1,43 \pm 0,46 ^b
Co	0,57 \pm 0,11 ^b
Cu	66,3 \pm 4,3 ^b
I	4,46 \pm 0,42 ^b
Fe	539 \pm 15 ^b
Pb	0,371 \pm 0,014 ^b
Mn	12,3 \pm 1,5 ^b
Hg	0,0642 \pm 0,0067 ^b
Ni	2,25 \pm 0,44 ^b
Se	2,21 \pm 0,24 ^b
Ag	1,68 \pm 0,15 ^b
Sr	11,1 \pm 1,0 ^b
U	0,132 \pm 0,012 ^b
V	4,68 \pm 0,15 ^b
Zn	830 \pm 57 ^b

a . concentração em peso (%)

b. concentração em $\mu\text{g/g}$

VI.3. Valores Certificados para os Elementos Constituintes do Material de Referência Cod Muscle CRM-422

Tabela VI.2- Valores certificados e indicados para os elementos do Músculo de Bacalhau

<i>Elemento</i>	<i>Valor certificado ± incerteza (µg/g)</i>	<i>Elemento</i>	<i>Valor indicado</i>
As	21,1± 0,5	Br	17
Cd	0,017± 0,002	Ca	330
Cu	1,05 ± 0,07	Co	0,015
Fe	5,46 ± 0,30	k	21,7x 10 ³
Hg	0,559 ±0,016	Mg	1,4
I	4,95 ±0,49	Na	2.200
Mn	0,543 ±0,028	S	11.500
Pb	0,085 ± 0,015	Sr	0,7
Se	1,63 ± 0,07	MeHg	0,43
Zn	19,6 ± 0,5		

VI.4. Valores Certificados dos Elementos Constituintes do material *River Sediment CRM-320*

Tabela VI.3- Valores certificados e indicados para os elementos do sedimento de Rio (mg/kg)

Elemento	Valor certificado (mg/kg)	Elemento	valor indicado	Elemento	valor indicado
As	76,7 ± 3,4	Al	82x10 ³	Mn	0,8x10 ³
Cd	0,533± 0,026	Ba	531	Mo	0,6
Cr	138 ± 7	Be	2,5	Na	20x10 ³
Cu	44,1 ± 1,0	Ca	22x10 ³	P	1,1x10 ³
Hg	1,03 ± 0,13	Co	19	Sb	0,6
Ni	75,2 ± 1,4	Cs	5,0	Si	278x10 ³
Pb	42,3 ± 1,6	Eu	1,5	Ti	5,0x10 ³
Sc	15,25 ± 0,36	Fe	45x10 ³	Th	18
Se	0,214± 0,034	K	25x10 ³	U	6
Zn	142 ± 3	La	46	V	105
		Mg	20x10 ³	Sn	6,0

VI.5. Sinais Gráficos e Curva de Calibração para o Material de Referência *Oyster Tissue* Mineralizado em Forno de Microondas

VI.5.1. Sinais gráficos para curva de calibração

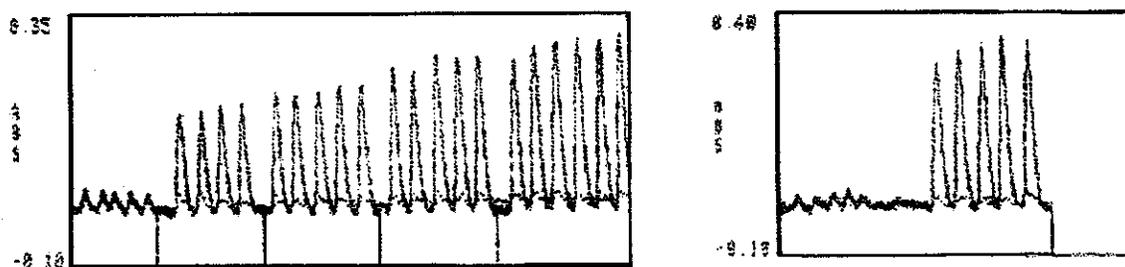


Figura VI.1. Sinais gráficos para a curva de calibração de As(III):

à esquerda: branco, 10; 15; 20; 25 $\mu\text{g L}^{-1}$:

à direita: 30 $\mu\text{g L}^{-1}$

VI.5.2. Sinais gráficos para as amostras mineralizadas



Figura VI.2. Sinais gráficos para a amostra no. 1

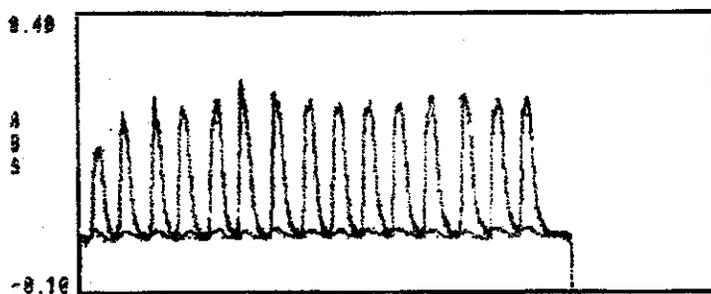


Figura VI.3. Sinais gráficos para a amostra no. 2

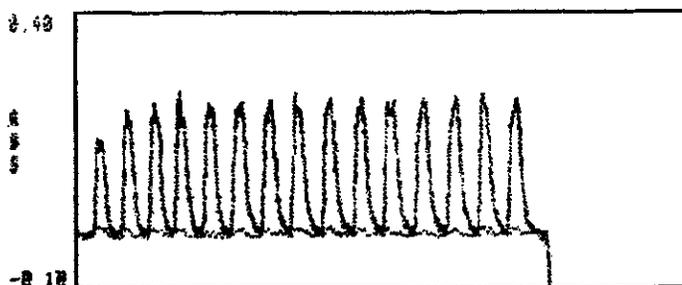


Figura VI.4. sinais gráficos para amostra no.3

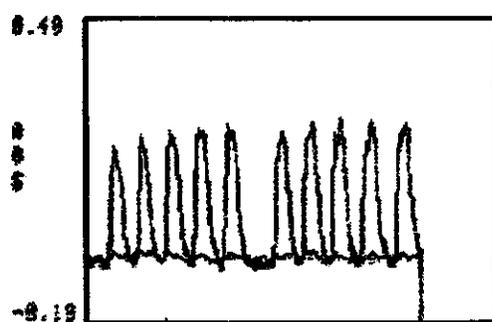


Figura VI.5. Sinais gráficos para amostra no. 4

Tabela VI.4- Valores médios (n=5) de absorvância para as soluções da curva analítica e para as amostra

Curva analítica [As] ($\mu\text{g L}^{-1}$)	absorvância	Amostras	absorvância
Branco	0,00**	1	0,239 \pm 0,004*
10	0,109 \pm 0,003	2	0,250 \pm 0,004*
15	0,143 \pm 0,005	3	0,251 \pm 0,005*
20	0,191 \pm 0,010	4	0,232 \pm 0,007*
25	0,223 \pm 0,009	Branco 1	0,034 \pm 0,003
30	0,262 \pm 0,005	Branco 2	0,014 \pm 0,003

* medidas de absorvância das amostras já descontadas do valor do branco

** sinal de absorvância do branco da curva; 0,017

RSD < 3 % para curva de calibração; RSD < 2 % para as amostras

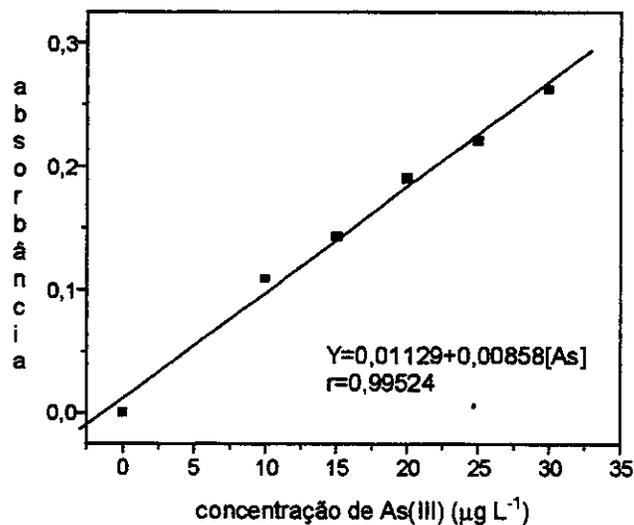


Figura VI.6- Curva de calibração e parâmetros analíticos

Tabela VI.6- Concentração de As obtida nas 4 determinações, considerando a massa pesada e o fator de diluição

Amostra	[As] obtida pela curva ($\mu\text{g L}^{-1}$)	massa de amostra (g)	Fator de diluição	[As] no balão ($\mu\text{g L}^{-1}$)	[As]** ($\mu\text{g/g}$)
1	26,4	0,2512	99,5	2628,8	13.144
2	27,8	0,2558	97,8	2716,1	13.581
3	27,8	0,2513	99,5	2766,1	13.831
4	25,7	0,2549	98,1	2521,2	12.606

** obs: Para calcular a concentração de As na amostra multiplicar [As] no balão pelo fator 5