

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**Instituto de Química**  
**Programa de Pós-Graduação em Química**

**Dissertação de Mestrado**

**Desenvolvimento de Metodologias Analíticas para a  
Especiação Química de Arsênio e Determinação  
de Elementos Traço em Arroz**

**Marcus Vinícius Barcellos de Fraga**  
**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dirce Pozebon**

**Porto Alegre, Junho de 2013**

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Instituto de Química**  
**Programa de Pós-Graduação em Química**

**Marcus Vinícius Barcellos de Fraga**

**Desenvolvimento de Metodologias Analíticas para a  
Especiação Química de Arsênio e Determinação  
de Elementos Traço em Arroz**

Dissertação apresentada como requisito parcial para  
obtenção do Grau de Mestre em Química

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Dirce Pozebon**

**Porto Alegre, Junho de 2013**

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção de título de mestre em Química e aprovada na sua forma final, pela orientadora e pela banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ).

Orientadora. Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dirce Pozebon

**BANCA EXAMINADORA:**

PROFA. DRA. MORGANA BAZZAN DESSUY – UFRGS

PROF. DR. DIOGO POMPÉU DE MORAES - PPGQ/UFRGS

PROF. DR. MARCO FLORES FERRÃO - PPGQ/UFRGS

Prof. Dr. Paulo Henrique Schneider  
Coordenador do PPGQ

***DESDE OS TEMPOS ANTIGOS NINGUÉM OUVIU, NENHUM OUVIDO  
PERCEBEU E OLHO NENHUM VIU OUTRO DEUS, ALÉM DE TI, QUE  
TRABALHA PARA AQUELES QUE NELE ESPERAM.***

***ISAÍAS 64:4***

## **DEDICATÓRIA**

Essa dissertação é dedicada primeiramente ao Soberano Senhor meu DEUS, criador dos céus e da terra, sustentador de tudo que neles há, pelo dom da vida que só Ele poderia ter me concedido, que mesmo eu não sendo Fiel, ele permanece Fiel por toda eternidade. A minha família, mãe, pai e manos, pelas orações, pelo sustento, apoio, cuidado e amor. Aos amados irmãos na Fé pelas orações, ajuda, momentos de comunhão inesquecíveis. Aos amigos, colegas e professores que de alguma forma contribuíram.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Programa de Pós-graduação em Química (PPGQ) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade concedida.

Em especial, a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dirce Pozebon pela confiança, amizade, orientação, ensinamentos, paciência, compreensão e ajuda em uma das etapas mais difíceis de minha vida e por ter acreditado na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Diogo Pompéu de Moraes, pela co-orientação na parte inicial do trabalho e pela ajuda fundamental na realização do mesmo, pelas sugestões e participação como membro da banca examinadora da qualificação e da defesa da dissertação.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Maria Maia, por permitir o uso do equipamento de AAS, utilizado no início desse trabalho.

A prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Morgana Bazzan Dessuy, pelas sugestões e participação como membro da banca examinadora da qualificação e dissertação.

Ao Prof. Dr. Marco Flores Ferrão, pelas sugestões e participação como membro da banca examinadora da defesa da dissertação.

A todos os professores e funcionários do PPGQ.

Aos colegas Anaí Loureiro, Caroline Saucier, Carla Felipi, Jaderson, Clarice Leite, Greici Alves, pelo apoio e tempos de estudos inesquecíveis juntos; esses tempos não seriam os mesmos sem vocês.

A minha família por todo amor e amparo.

A minha grande amiga Claudia Brito, por todo carinho, ajuda, momentos de alegria e tristezas que passamos juntos; tu foste uma guerreira amada irmã, pois sempre estive ao meu lado, incentivando-me, aconselhando-me e motivando-me, principalmente nos momentos mais difíceis que enfrentei.

Aos amigos, irmãos, companheiros de Fé do grupo cristão Alfa&Omega, Stephan, Jean, Arthur, Marluci, Gilnei, Fortuna, Jhonnattas, Carol, Jaque, Fernanda Chies e tantos outros que estiveram sempre orando por mim.

Aos colegas Guilherme, Marcelo, Fernanda, Fabrina e bolsistas de IC do laboratório, pela contribuição para a realização deste trabalho e pelos momentos de descontração. Em



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 ARROZ .....	5
2.2 CONTAMINANTES INORGÂNICOS .....	7
2.2.1 ARSÊNIO.....	8
2.2.1.1 HISTÓRICO.....	8
2.2.1.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO ARSÊNIO.....	9
2.2.1.3 OCORRÊNCIA E USO DO ARSÊNIO .....	9
2.2.1.4 TOXICIDADE DO ARSÊNIO.....	11
2.3 CONTAMINAÇÃO DE ALIMENTOS E ÁGUA POR ARSÊNIO .....	14
2.3.1 OUTROS ELEMENTOS TÓXICOS ENCONTRADOS EM ARROZ.....	16
2.4 ANÁLISE POR ESPECIAÇÃO QUÍMICA .....	17
2.4.1 ESPECIAÇÃO DE ARSÊNIO EM ALIMENTOS.....	18
2.4.2 MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A ESPECIAÇÃO QUÍMICA ..	20
2.4.2.1 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	21
2.4.2.1.2 EXTRAÇÃO POR ULTRASSOM .....	23
2.4.2.2 AMOSTRAGEM POR SUSPENSÃO.....	24
2.4.2.2.1 HOMOGENEIZAÇÃO .....	25
2.4.2.2.2. TAMANHO DE PARTÍCULA.....	26
2.5 TÉCNICAS DE DETECÇÃO.....	27
2.5.1 ESPECTROMETRIA ATÔMICA.....	27
2.5.2. ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM FONTE DE PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP OES) .....	28
2.5.3. ESPECTROMETRIA DE MASSA COM FONTE DE PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP-MS) .....	29
2.5.4. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA (AAS) .....	30
2.5.4.1 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETOS (HG-AAS) .....	31
2.5.4.1.1 GERAÇÃO DE HIDRETO (HG) .....	31
2.5.4.1.2 PRÉ-CONCENTRAÇÃO .....	35



3. OBJETIVO .....	37
4. PARTE EXPERIEMETAL .....	38
4.1 INSTRUMENTAÇÃO .....	38
4.2 MATERIAIS E REAGENTES .....	41
4.2.1 LIMPEZA DO MATERIAL .....	43
4.3 AMOSTRAS .....	44
4.3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS .....	44
4.4 AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO .....	45
4.5 SISTEMA HG-CT-AAS .....	46
4.6 SEPARADOR GÁS-LÍQUIDO (GLS) .....	47
4.6.1 PREPARO DO TUBO EM “U” PARA A ETAPA DE APRISIONAMENTO CRIOGÊNICO .....	48
4.7 APRISIONAMENTO CRIOGÊNICO DE ESPÉCIES DE ARSÊNIO E DETERMINAÇÃO POR HG-AAS (HG-CT-AAS).....	49
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	51
5.1 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO .....	52
5.2 DETERMINAÇÕES POR ICP OES E ICP-MS .....	53
5.2.2 NÍQUEL, TÁLIO, ESTANHO E ANTIMÔNIO .....	54
5.2.3 MICRONUTRIENTES .....	55
5.3 DETERMINAÇÃO DE HG POR CV-AAS E CV-ICP OES .....	57
5.4 DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO POR HG-AAS E HG-ICP OES .....	59
5.5 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ARSÊNIO EM ARROZ VISANDO A ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA.....	62
5.5.1 ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO.....	65
5.5.2 ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO EM ARROZ.....	67
5.6.2.1 PARÂMETROS DE MÉRITO DO MÉTODO DE ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO (As <sup>III</sup> , MMA e DMA) POR HG-CT-AAS .....	69
5.6.2.2 RESULTADO DA ANÁLISE .....	70
5.6.2.3 EXATIDÃO DOS RESULTADOS .....	71
5.7 SEPARAÇÃO DAS ESPÉCIES ARSÊNIO(III) E ARSÊNIO(V).....	71
6. CONCLUSÕES.....	74
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	75

APÊNDICES .....	83
APÊNDICE A .....	83
APÊNDICE B .....	85

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.Reações redox do sistema M(V)/KI/ácido ascórbico, sendo M = As(V) ou Sn (V) .	34
Figura 2.Esquema de sistema de geração química de vapor (CVG). Adaptado da referência 144.....	40
Figura 3.Sistema utilizado para a análise de especiação de As por HG-CT-AAS.....	41
Figura 4.Frasco de polietileno modificado, utilizado como separador gás-líquido na análise de especiação química de As por HG-CT-AAS.....	47
Figura 5.Tubo em “U” utilizado para trapeamento criogênico na análise de especiação química de As por HG-CT-AAS.....	49
Figura 6.Sistema e acessórios utilizados para análise de especiação química de As por HG-CT-AAS; .....	51
Figura 7.Concentrações de Cd e Pb encontradas nas amostras de arroz analisadas; barras não mostradas referem-se a concentrações abaixo dos respectivos LDs (Tabela 6). As barras de erro indicam o desvio padrão de 3 determinações. As concentrações máximas de Cd e Pb permitidas pela legislação brasileira são de 1000 e 800 ng g <sup>-1</sup> .....	54
Figura 8. Concentrações de Ni encontradas nas amostras de arroz. As barras de erro indicam o desvio padrão de 3 determinações.....	54
Figura 9.Concentrações de Zn, Cu e Mn encontradas nas amostras de arroz analisadas. As barras de erro indicam o desvio padrão de 3 determinações.....	56
Figura 10.Concentrações de Mo e Cr encontradas nas amostras de arroz analisadas. As barras de erro indicam o desvio padrão de 3 determinações.....	56
Figura 11.Concentrações de Se e Co encontradas nas amostras de arroz analisada. As barras de erro indicam o desvio padrão de 3 determinações.....	57
Figura 12.Influência das concentrações de HCl e NaBH <sub>4</sub> no sinal do Hg determinado por CV-AAS. Uma solução teste contendo 20 µg L <sup>-1</sup> de Hg foi utilizada. As barras de erro representam o desvio padrão de três determinações. ....	58
Figura 13.Curvas de calibração de Hg obtidas por (a) CV-AASe (b) CV-ICP OES.....	58
Figura 14.Influência das concentrações de HCl e NaBH <sub>4</sub> no sinal de As determinado por HG-AAS. Uma solução teste contendo 5 µg L <sup>-1</sup> de As foi utilizada. As barras de erro representam o desvio padrão de três determinações. ....	59

Figura 15. Concentração de As encontrada nas amostras de arroz digeridas, determinada mediante as diferentes técnicas; barras não mostradas referem-se a concentrações de As abaixo do LD. As barras de erro representam o desvio padrão de três determinações....	61
Figura 16. Concentração de As encontrada nas amostras de arroz digeridas ou em forma de suspensão, determinadas por HG-AAS; barras não mostradas referem-se a As abaixo do LD. As barras de erro representam o desvio padrão de três determinações.....	62
Figura 17. Concentração de As total encontrada em arroz, em função os diferentes métodos de extração e técnicas de medição. O valor de referência é 116,8 ng g <sup>-1</sup> , indicado pela linha vermelha nas figuras.....	64
Figura 18. Cromatograma preliminar das espécies de As, obtido por HG-CT-AAS para 0,5 mL de solução contendo 10 µg L <sup>-1</sup> de As(III) na forma inorgânica, MMA e DMA, .....	66
Figura 19. Cromatograma das espécies de As, obtido por HG-CT-AAS para 0,5 mL de solução contendo 10 µg L <sup>-1</sup> de As(III) na forma inorgânica, MMA e DMA, .....	67
Figura 20. Cromatograma obtido por HG-CT-AAS para as espécies de As em 0,5 mL de suspensão (5% m/v) de arroz integral, preparada com HCl 0,3 mol L <sup>-1</sup> .....	70

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Compostos de As de interesse em estudos de especiação. Extraído de Demesmay et al, 1994.....	13
Tabela 2. Limites máximos de tolerância para As em alimentos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), segundo a ANVISA.....	16
Tabela 3. Parâmetros instrumentais e acessórios utilizados nas determinações por ICP-OES e ICP-MS.....	39
Tabela 4. Relação de amostras analisadas.....	44
Tabela 5. Etapas do programa semi-automatizado para a análise de especiação química de As por HG-CT-AAS.....	50
Tabela 6. Valores de LD e LQ para o teor total de elementos investigados neste trabalho.....	52
Tabela 7. Parâmetros de mérito do método de análise de especiação química de As por HG-CT-AAS em função dos diferentes solventes. ....	69
Tabela 8. Resultados obtidos para a determinação das espécies de arsênio por HG-CT-AAS e comparação com a concentração total encontrada por outras técnicas. ....	71
Tabela 9. Concentração das espécies de As, encontradas no arroz analisado e comparação da concentração total de As determinada por diferentes técnicas.....	73

## LISTA DE ABREVIATURAS

AAS: Espectrometria de Absorção Atômica - do inglês, “*Atomic Absorption Spectrometry*”.

AFS: Espectrometria de Fluorescência Atômica - do inglês, “*Atomic Fluorescence Spectrometry*”.

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

AsO<sub>3</sub><sup>-3</sup>: Ion arsenito.

AsO<sub>4</sub><sup>-3</sup>: Ion arsenato.

AsB: Arsenobetaina.

AsC: Arsenocolina.

CRM: Material de Referência Certificado - do inglês, “*Certified Reference Material*”.

CT: do inglês, “*Criogenic-Trapping*”.

CVG: Geração Química de Vapor - do inglês, “*Chemical Vapor Generation*”.

CV-AAS: Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor frio - do inglês, “*Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry*”.

CV-ICP OES: Geração de Vapor Frio - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado - do inglês, “*Chemical Vapor Generation-Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*”.

d.e.: diâmetro externo.

d.i.: diâmetro interno.

DMA(III): ácido dimetilarsênioso .

DMA(V): ácido dimetilarsínico.

SD: Desvio padrão - do inglês, “*standard deviation*”.

FAO: Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas - do ingles, “*Food and Agriculture Organization of the United Nations*”.

FI: Injeção em Fluxo - do inglês, “*Flow Injection*”.

FIA: Análise por Injeção em Fluxo - do inglês, “*Flow Injection Analysis*”.

GC: Cromatografia a Gás - do inglês, “*Gas Chromatography*”.

GLS: Separador Gás-Líquido - do inglês, “*Gas Liquid Separator*”.

GF AAS: Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite - do inglês, “*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*”.

HG: Geração de Hidretos - do inglês, “*Hydride Generation*”.

HG-AAS: Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos - do inglês, “*Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrometry*”.

HG-CT-AAS: Geração de Hidretos com Aprisionamento Criogênico associados à Espectrometria de Absorção Atômica com Chama - do inglês, “*Hydride Generation-Criogenic-Trapping Atomic Absorption Spectrometry*”.

HG-ICP OES: Geração de Hidretos-Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado - do inglês, “*Hydride Generation-Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*”.

IARC: Agência Internacional de Pesquisas em Câncer - do inglês, “*International Agency for Research on Cancer*”.

iAs: Arsênio inorgânico.

ICP-MS: Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado - do inglês, “*Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*”.

ICP OES: Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado - do inglês, “*Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*”.

INAA: Análise Instrumental por Ativação Neutrônica - do inglês, “*Instrumental Neutron Activation Analysis*”.

IUPAC: do inglês, “*International Union of Pure and Applied Chemistry*”.

LC: Cromatografia à Líquido - do inglês, “*Liquid Chromatography*”.

LC-ICP-MS: Cromatografia à Líquido-Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado - do inglês, “*Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*”.

LD: Limite de Detecção - do inglês, “*Limit of Detection*”.

LQ: Limite de Quantificação - do inglês, “*Limit of Quantification*”.

m/v: massa por volume.

MMA(V): Ácido monometilarsênico.

MMA(III): Ácido monometilarsenioso.

PTFE: Politetrafluoretileno, teflon®

QTA: Atomização em Tubo Quartz - do inglês, “*Quartz Tube Atomizer*”.

rpm: rotações por minuto.

RSD: Desvio Padrão Relativo - do inglês “*Relative Standard Deviation*”.

v/v: volume por volume

WHO: Organização Mundial da Saúde - do ingles "*World Health Organization*".



## RESUMO

Neste estudo foi desenvolvida metodologia analítica para análise de especiação química de arsênio, fazendo-se pré-concentração de espécies do elemento mediante aprisionamento criogênico e determinação por espectrometria de absorção atômica associada à geração de hidretos (HG-CT-AAS). As espécies determinadas foram arsênio inorgânico (iAs), ácido monometilarsênio (MMA) e ácido dimetilarsênio (DMA), cujos limites de detecção foram 0,15; 0,2 e 0,5  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. A metodologia desenvolvida foi aplicada para análise de especiação química de arsênio em arroz integral, onde foram detectados iAs e DMA, cujas concentrações encontradas foram  $70,8 \pm 0,3 \text{ ng g}^{-1}$  e  $54,9 \pm 9,2 \text{ ng g}^{-1}$ , respectivamente. A determinação das espécies inorgânicas de arsênio foi realizada por HG-AAS, sendo as espécies As(III) e As(V) quantificadas no arroz, cujas concentrações de As(III) e As(V) encontradas foram  $44,5 \pm 0,5 \text{ ng g}^{-1}$  e  $26,3 \pm 0,3 \text{ ng g}^{-1}$ , respectivamente. Além disso, foram determinados elementos traço em diferentes tipos de arroz, incluindo As, Pb e Cd que são controlados em alimentos pela legislação brasileira. Foram analisadas amostras de diferentes cultivares (agulhinha, branco e cateto), de diferentes processamentos (polido, integral, parboilizado) e de diferentes formas de cultivo (orgânico, biodinâmico e convencional). As amostras foram moídas em moinho criogênico, peneiradas (em malha de 0,08 mm) e decompostas para a determinação de Cd, Pb, Tl, Sn, Sb, Co, Cu, Mn, Se e Zn por ICP-MS (espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado); Cr, Ni e Mo por ICP OES (espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado); As por HG-AAS (geração de hidretos associada à espectrometria de absorção atômica) e HG-ICP OES (geração de hidretos associada a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado) e Hg por CV-ICP OES (geração de vapor associada à espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado). Para a determinação de As e Hg foram também preparadas suspensões das amostras de arroz, para posterior determinação desses elementos por HG-AAS e/ou ICP OES. As concentrações de As, Cd e Pb encontradas no arroz estão de acordo com a legislação brasileira. Concentrações relativamente baixas de Tl, Sb e Ni foram encontradas em todas as amostras analisadas. Arsênio, Cd, Pb, Zn, Mn e Cu foram encontrados em maiores concentrações no arroz integral, sugerindo a prevalência desses elementos no farelo do arroz. Por outro lado, no arroz parboilizado foram encontradas as menores concentrações de Pb, Mo, Cr, Se e Co.

## ABSTRACT

A method for chemical speciation of arsenic was developed in the present study. Arsenic species were preconcentrated by cryogenic trapping prior to their determination by atomic absorption spectrometry associated with hydride generation (HG-CT-AAS). Inorganic arsenic (iAs), monomethylarsenic acid (MMA) and dimethylarsenic acid (DMA) were determined, whose detection limits were 0.15, 0.2 and 0.5  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectively. The methodology was applied for As speciation in rice where iAs e DMA were detected, whose concentrations found were  $70.8 \pm 0.3 \text{ ng g}^{-1}$  and  $54.9 \pm 9.2 \text{ ng g}^{-1}$ , respectively. The determination of inorganic arsenic species was carried out by HG-AAS whereas As(III) and As(V) were detected in the analyzed rice sample. The As(III) and As(V) concentrations found were  $44.5 \pm 0.5 \text{ ng g}^{-1}$  and  $26.3 \pm 0.3 \text{ ng g}^{-1}$ , respectively. In addition, trace elements were determined in different types of rice, including As, Pb and Cd that are controlled by the Brazilian legislation. Samples of rice from different cultivars as well as from different processing (polished, brown and parboiled rice) and cultivation (organic, biodynamic and conventional) were analyzed. The rice samples were ground in a cryogenic mill, sieved (mesh of 0.08 mm) and acid digested for the determination of Cd, Pb, Tl, Sn, Sb, Co, Cu, Mn, Se and Zn by ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry), and Cr, Ni and Mo by ICP OES (inductively coupled plasma optical emission spectrometry). Arsenic was determined by using hydride generation associated with atomic absorption spectrometry (HG-AAS) and hydride generation associated with inductively coupled plasma optical emission spectrometry (HG-ICP OES), whereas Hg was by cold vapor associated with inductively coupled plasma optical emission spectrometry (CV-ICP OES). Slurry of the rice samples were prepared for the determination of As and Hg. Arsenic was also determined in the solutions of the digested samples. The As, Cd and Pb concentrations found in the rice samples were in accordance with the Brazilian legislation. Low concentrations of Tl, Sb and Ni were found in all samples. Arsenic, Cd, Pb, Zn, Mn and Cu were found in highest concentrations in brown rice, suggesting the prevalence of these elements in the bran of the rice grain. Moreover, Pb, Mo, Cr, Se and Co were found in lower concentrations in parboiled rice.

# 1. INTRODUÇÃO

Vivemos em um mundo em contínuo desenvolvimento, no qual a indústria química tem permitido melhorar, de forma evidente, a qualidade de vida de seus habitantes. No entanto, as atividades humanas vêm produzindo mudanças nos níveis naturais de distintos componentes do ambiente terrestre, entre os quais se encontram elementos químicos tóxicos. Afortunadamente, estes contaminantes normalmente não são absorvidos por inalação nem por contato com a pele, embora tenham o potencial de fazê-lo mediante os alimentos que ingerimos.

Portanto, é relevante ter consciência que os alimentos podem ser fonte de nutrientes, mas também de contaminantes. O controle de qualidade dos alimentos vem sendo objeto de uma constante evolução, visando produzir e oferecer ao consumidor produtos de origem animal e vegetal absolutamente de acordo com as normas específicas de segurança.

Com o decorrer do tempo, a Química Analítica alterou seu enfoque na área dos alimentos, pois a despeito dos protocolos oficiais para a determinação dos componentes majoritários, como proteínas, açúcares e gorduras, os avanços recentes dão-se na determinação dos componentes presentes em menores quantidades, mas nem assim menos importantes.

Todas as formas de vida são afetadas pela presença de um determinado elemento químico, dependendo da dose e da forma química do mesmo. Muitos elementos químicos são essenciais para o crescimento de todos os tipos de organismos, desde as bactérias até o ser humano. Esses elementos químicos são requeridos em baixas concentrações e seu excesso pode danificar sistemas biológicos e, portanto, a determinação destes elementos em produtos comestíveis é relevante.

Sabe-se, hoje, que conhecer apenas a concentração total de determinados elementos pode não ser suficiente, visto que a ação dos mesmos no organismo depende da forma química dos mesmos. Daí, a importância da análise de especiação química de metais e metalóides, ou seja, a determinação da concentração das formas químicas individuais desses elementos que, em conjunto, constituem a sua concentração total, possibilitando a obtenção de informações que permitirão melhor avaliação quanto à toxicidade das espécies do elemento, devido à bioabsorção, biodisponibilidade etc<sup>1</sup>.

Os cereais são uma das principais fontes de alimento para o ser humano em todo o mundo. Fazem parte da base da alimentação para milhares de pessoas. O arroz é o segundo cereal mais produzido e mais consumido no mundo, sendo a principal fonte de alimento para mais de um bilhão de pessoas.

A produção de arroz, em sua grande maioria, é realizada de forma irrigada, método que favorece a absorção de elementos químicos pela planta. Desta forma, o arroz, além de ser fonte de proteínas, carboidratos e vitaminas, pode conter elementos considerados tóxicos. Portanto, é muito importante o monitoramento do teor de determinados elementos tóxicos no arroz. Alguns elementos são micronutrientes para o ser humano e para as plantas, sendo a deficiência dos mesmos maléfica, bem como seu excesso. Outros elementos são extremamente tóxicos em pequenas quantidades por não serem necessários para a vida; ao invés disso, são elementos que atuam de forma negativa no organismo, provocando diversos tipos de doenças e efeitos adversos.

No meio ambiente, os elementos apresentam, normalmente, comportamentos diferentes dos esperados em função das propriedades químicas dos elementos em questão. A obtenção de informações sobre a espécie encontrada em determinadas condições torna-se um pré-requisito fundamental para uma melhor compreensão de sua distribuição, atividade biológica e interações com o meio ambiente.

Uma técnica relativamente barata para a quantificação de elementos químicos é a espectrometria de absorção atômica (AAS). No entanto, a sensibilidade é ruim para metaloides como As, que pode ser melhorada mediante o uso da geração de hidretos (HG) associada a AAS (HG-AAS). A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), apesar de ser considerada mais cara que a AAS, tem a vantagem de ser multielementar e mais sensível, podendo-se quantificar um número maior de elementos. A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) tem melhor sensibilidade que a ICP OES e é também multielementar. No entanto, é mais susceptível a interferências de matriz, mais cara e mais complexa<sup>2</sup>.

Para a análise de especiação química de As uma das técnicas mais utilizadas é a cromatografia a líquido (LC) combinada com (ICP-MS). Entre as vantagens associadas ao uso da ICP-MS cabe destacar a elevada sensibilidade, os baixos limites de detecção (LDs) alcançados e a detecção seletiva<sup>3</sup>.

Nas análises realizadas por meio da técnica de LC-ICP-MS pode-se utilizar uma variada gama de colunas cromatográficas, ocasionando em diferentes tipos de fases móveis que poderão ser utilizadas para a separação das diferentes espécies de As. Sendo assim a escolha da fase móvel nesta técnica é uma etapa decisiva na análise por especiação química, pois tem especial influência na etapa de detecção, devido à composição da fase móvel ou presença de contaminantes que podem causar interferências na determinação por ICP-MS. Destaca-se que a determinação de As por ICP-MS pode, também, ser prejudicada pela presença de Cl que, por sua vez, pode causar interferência sobre o As, pela formação do íon  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$  com razão massa-carga (m/z) do As <sup>4</sup>.

A utilização da espectrometria de absorção atômica (AAS) associada à técnica de geração de hidretos (HG) é considerada uma das técnicas mais promissoras para a quantificação de As total, devido à elevada versatilidade, disponibilidade, facilidade de operação e sensibilidade adequada<sup>4</sup>.

O Uso da HG, seguido de uma etapa de aprisionamento criogênico (CT) e detecção por AAS é uma alternativa de baixo custo para análise de especiação química de As, onde, geralmente, certas espécies, podem ser separadas e quantificadas, sem modificações da instrumentação. Neste caso, as espécies voláteis formadas são aprisionadas sob nitrogênio líquido. Posteriormente, o sistema é aquecido e ocorre a volatilização e separação das espécies de acordo com seus respectivos pontos de ebulição e afinidade com a fase estacionária contida no tubo em forma de “U” onde as espécies são aprisionadas<sup>5,6</sup>.

A análise de especiação química tanto por LC-ICP-MS quanto por HG-CT-AAS, para amostras sólidas, exige uma etapa de pré-tratamento da amostra ou extração das espécies de As da matriz<sup>6,7</sup>. Contudo, a etapa de tratamento de amostra é uma etapa crítica, onde conversão e/ou perdas das espécies das mesmas podem ocorrer<sup>6,8</sup>.

Como alternativa para contornar essas limitações é a análise da amostra na forma de suspensão, onde o tratamento intensivo da amostra pode ser evitado e, podem-se agregar simultaneamente algumas vantagens relacionadas à análise direta de amostras sólidas. Entretanto, algumas limitações ainda podem ser observadas, principalmente, com relação ao tamanho das partículas e a estabilidade da suspensão<sup>9</sup>.

A presente dissertação está dividida em três partes. A primeira compreende o desenvolvimento de uma metodologia para a determinação da concentração total de

elementos-traço tóxicos (Cd, Pb, Tl, Sn, Sb e Ni) ou micronutrientes (Co, Cu, Mn, Se, Zn, Cr e Mo) em arroz oriundo de diferentes processos de beneficiamento, diferentes variedades e diferentes formas de cultivo. Para tanto, foram utilizadas as técnicas de ICP-OES e ICP-MS. Nesta etapa foi possível verificar se as concentrações de elementos controlados (As, Cd e Pb) em alimentos pela legislação brasileira.

A segunda parte do trabalho diz respeito à determinação do conteúdo total de arsênio por (HG- AAS), após avaliação dos parâmetros analíticos pertinentes à técnica, tais como concentração de agente redutor, da solução ácida utilizada como carreador e do volume de solução da amostra.

A terceira parte do trabalho corresponde ao desenvolvimento de uma metodologia analítica para análise especiação química de As mediante aprisionamento criogênico e determinação das espécies iAs, MMAs e DMAs por HG-CT-AAS. Foram estudados diversos parâmetros para otimização do sistema, além do método de preparo de amostra de arroz, que não transformasse as espécies e que proporcionasse extração quantitativa das mesmas.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ARROZ

O arroz (*Oryza sativa* L.) é originário da Ásia, onde muitas culturas apresentam evidências e registros arqueológicos do cultivo de arroz desde 7000 a 5000 a.c. O cultivo do arroz aprimorou-se e difundiu-se para os outros continentes e hoje desempenha um importante papel no aspecto econômico e social, além de ser um dos principais alimentos de subsistência humana<sup>2</sup>.

A importância do arroz é destacada, principalmente, em países em desenvolvimento como o Brasil<sup>10</sup>. Portanto, o arroz pode afetar diretamente a saúde humana, devido a sua qualidade nutricional e seu alto consumo pela população.

Dados da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) indicaram que a safra mundial de 2011 foi de, aproximadamente, 720 milhões de toneladas de arroz em casca. Os maiores produtores de arroz são os países do sudeste asiático: China, Índia, Indonésia, Bangladesh, Vietnã e Mianmar. Ganham destaque ainda o Brasil e os Estados Unidos da América, que ocupam, respectivamente, o 9º e 10º lugar no “ranking” dos países produtores de arroz. Além de maior produtor, a Ásia é o continente em que mais arroz é consumido no mundo. Dados do ano de 2007 indicam que a média de consumo mundial de arroz é de 79,4 kg/pessoa/ano. Na Ásia essa média é 116,8 kg/pessoa/ano e no Brasil ela é 49,8 kg/pessoa/ano<sup>11</sup>.

No Brasil a produção de arroz concentra-se principalmente na região Sul, a qual é responsável por cerca de 70% do total de arroz produzido no país. No Brasil há 2 sistemas de cultivo do arroz: o ecossistema de várzeas, irrigado por inundação controlada e o de terras altas (sequeiro), englobando o arroz produzido sem irrigação (a água para a cultura do arroz dependente totalmente da precipitação pluvial) e o arroz com irrigação suplementar por aspersão. A orizicultura irrigada é responsável por cerca de 70% da produção nacional de arroz, sendo considerada um estabilizador da safra, uma vez que não é tão dependente das condições climáticas como no caso dos cultivos em terras altas. Do arroz irrigado produzido no Brasil, 70% é cultivado na região Sul (SC e RS). O arroz cultivado em terras altas concentra-se na região Centro-Oeste (principalmente no Mato Grosso)<sup>12</sup>.

No Rio Grande do Sul, na safra de arroz 2011/2012 foram colhidas em torno de 7,8 milhões de toneladas de arroz em cerca de 1 milhão de hectares plantados<sup>13</sup>.

O arroz é uma importante fonte de proteínas, carboidratos e nutrientes. O grão de arroz “in natura” é constituído pela casca, o farelo e o endosperma. O farelo é a parte mais nutritiva por conter o gérmen do grão, rico em proteínas e lipídios. No entanto, corresponde apenas a cerca de 2% do grão. A casca é cerca de 20% da massa total do grão de arroz e em geral é retirada para o consumo do grão. O endosperma é a maior parte do grão e é rico em amido, mas contém também proteínas<sup>10</sup>.

O grão geralmente não é consumido “in natura”. Este passa por processos de beneficiamento, resultando em diferentes tipos de arroz - os mais comuns são o arroz integral, o parboilizado e o polido ou branco, sendo o arroz polido o mais consumido no Brasil e no mundo.

O processamento do arroz inicia-se com uma pré-limpeza e secagem, pois o grão deve ter no máximo 13% de umidade para ser descascado. Depois do descascamento, o grão passa por um brunidor para retirada do farelo e em seguida passa por polimento, que o torna branco e opaco. Em seguida é realizada uma seleção dos grãos, para eliminação daqueles que não foram bem processados ou que tenham sido quebrados no processo de beneficiamento. Este processo de beneficiamento é aplicado tanto para a obtenção do arroz polido quanto do integral. A grande diferença é que a brunição é bem mais branda no beneficiamento do arroz integral, que fica com uma parte do farelo e do gérmen, enquanto que o arroz polido não contém estas partes.

Para o beneficiamento do arroz parboilizado, este é submetido a um processamento hidrotérmico, além do descrito para o arroz polido. A primeira etapa do processamento hidrotérmico é o encharcamento, ou aguação, que tem por objetivo propiciar certo grau de intumescimento do grão, através da absorção de água pelo mesmo. Após esta etapa, espera-se que o grão tenha de 30 a 32% de umidade. Subsequentemente, o grão é submetido a processo de gelatinização, que consiste no aquecimento do grão intumescido, sob pressão de vapor, para a mudança na estrutura do amido. Quando o grão de arroz é naturalmente formado, os grânulos de amido organizam-se em estruturas cristalinas e ao sofrer o tratamento hidrotérmico, que caracteriza a parboilização, ocorre à transformação da estrutura do amido, de cristalina para amorfa, de forma irreversível. Este procedimento reduz as quebras e perdas



no processo de descascamento e polimento e, em princípio, também é responsável por uma maior fixação dos nutrientes que são levados ao grão pela água. Antes de seguir o processo de descascamento, estes grãos passam por uma secagem, pois contêm cerca de 30% de umidade - para o processo de descascamento é preciso que a umidade seja, no máximo, 13%<sup>14</sup>.

A classificação do arroz é feita analisando-se duas características: o tamanho dos grãos (classe) e a qualidade dos grãos (tipo). Entre as classes temos o arroz longo fino (agulhinha), longo, médio, curto e misturado, enquanto que os tipos são 1, 2, 3, 4 e 5.

O cultivo de arroz orgânico é crescente, no qual não faz uso de produtos químicos sintéticos, tais como fertilizantes, pesticidas e sementes geneticamente modificadas, aderindo aos princípios da agricultura sustentável e ao princípio de respeito à natureza. Além do cultivo orgânico, existe o biodinâmico, que segue todos os princípios do cultivo orgânico e envolve também o cultivo da terra orientado pelo calendário astronômico e fases da lua. E para comprovar que o produto segue estes tipos de cultivo é preciso a certificação, que envolve uma série de normas reguladoras destes cultivos<sup>15</sup>.

## **2.2 CONTAMINANTES INORGÂNICOS**

A cultura do arroz irrigado submete as plantas e o solo a condições anaeróbicas, que juntamente com excesso de água acarretam uma maior mobilidade de elementos químicos e suas espécies no meio, podendo levar a um acúmulo destes na planta e nos grãos. Deste modo, o arroz está sujeito a contaminações por elementos químicos e suas respectivas espécies, oriundos de solos contaminados, água contaminada (subterrânea ou usada na irrigação) e uso de pesticidas e fertilizantes<sup>16</sup>.

Alguns metais e metalóides são ditos essenciais para organismos vivos, uma vez que os mesmos necessitam para a vida. São chamados micronutrientes e compreendem, por exemplo: Co, Cu, Cr, Mn, Mo, Se e Zn. Assim, a deficiência destes elementos é maléfica, mas o excesso dos mesmos também pode ser prejudicial à saúde humana. Já As, Cd, Ni, Pb, Tl, Sn e Sb são elementos que não são naturalmente encontrados nos organismos vivos e que também não desempenham nenhuma função nutricional ou bioquímica. Desta forma, em

qualquer concentração, estes últimos são considerados prejudiciais à saúde, podendo ser altamente tóxicos.

Aspectos importantes sobre toxicologia e importância dos elementos determinados neste trabalho estão descritos no *Handbook of Toxicology*<sup>17</sup>.

## **2.2.1 ARSÊNIO**

### **2.2.1.1 HISTÓRICO**

O As elementar foi descrito pela primeira vez por Paracelso por volta de 1520 D.C.<sup>18</sup>. A partir daí começou a ser escrita a trágica história de envenenamentos, homicídios e suicídios por As. A popularidade de seu uso, para esses fins, estaria mais relacionada à sua disponibilidade a baixo custo e ao fato de ser inodoro e sem gosto, do que à sua eficácia tóxica propriamente dita. Um dos casos mais documentado de envenenamento por As, relatado na nossa História, está relacionado à morte de Napoleão Bonaparte, que foi associada a um medicamento à base de As e Se, usado para tratar a sua dor de estômago crônica. Em uma autópsia realizada em 1821 foi constatado que havia câncer em seu estômago, sendo esta a possível causa de sua morte<sup>19</sup>.

A popularidade do As como veneno começou a declinar a partir da segunda metade do século XVIII quando passou, então, a ser utilizado como remédio para tratar várias doenças como, por exemplo, doenças da pele, nevralgias, malária, sífilis e epilepsia. Neste período ele foi tão amplamente utilizado como remédio que chegou a ser considerado uma poção mágica e responsável por mágicas “curas”<sup>20</sup>.

Apesar do As ter sido associado a envenenamentos criminosos e a poções mágicas por muitos séculos, o tópico de interesse atual é a sua contribuição na poluição do meio ambiente através das suas várias formas de utilização. Ele é um elemento extremamente tóxico porque seus íons ou compostos são solúveis em água e podem ser, prontamente, absorvidos pelo organismo humano, onde tende a se combinar, inibindo a função de certas enzimas. A presença deste elemento nos organismos vivos pode ser prejudicial e seus efeitos tóxicos podem gerar problemas de saúde permanentes, tanto em seres humanos quanto ecossistemas.

### 2.2.1.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO ARSÊNIO

O As é classificado como um metalóide, pois apresenta características tanto de um metal como de um não-metal. Ele é frágil, cristalino, incolor, inodoro e, sob aquecimento, oxida-se rapidamente para óxido arsenioso ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ). Apresenta-se em duas formas alotrópicas: o cinza metálico e o amarelo e, ocasionalmente, pode ser encontrado na forma livre, porém é mais frequente encontrá-lo sob a forma de mineral. O mineral mais comum e rico em As é a arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ )<sup>21,22</sup>.

O As ocorre em vários estados de oxidação (-3, 0, +3 e +5), podendo estar tanto na forma inorgânica quanto orgânica. As formas inorgânicas incluem o As trivalente, As (III), e o As pentavalente, As (V). As formas orgânicas mais comuns são os metabólitos metilados como o ácido metilarsênio (MMA) e o ácido dimetilarsênio (DMA)<sup>21</sup>. O grau de toxicidade dos compostos de As varia de acordo com sua forma química e diminui na seguinte ordem: arsina (-3) → derivados orgânicos da arsina → arsênio inorgânico (+3) → arsênio orgânico (+3) → arsênio inorgânico (+5) → compostos orgânicos pentavalentes → outros compostos orgânicos de arsênio → As elementar<sup>22</sup>.

Portanto, para melhor entendimento do papel do As sobre os organismos vivos é necessário o conhecimento de suas formas químicas<sup>21</sup>.

### 2.2.1.3 OCORRÊNCIA E USO DO ARSÊNIO

O As é um elemento presente, naturalmente ou oriundo da atividade humana, no solo, na água, no ar e nos alimentos. O As pode ser obtido, como subproduto, no tratamento de minérios de ouro, prata, cobalto, níquel, chumbo, cobre e antimônio.

Na natureza, existem mais de 200 espécies minerais onde o componente principal é o As. Alguns compostos arsenicais são relativamente voláteis e contribuem para a contaminação ambiental. Cerca de 73.540 toneladas de As são liberadas anualmente para o meio ambiente, das quais 60% são de origem natural, principalmente das erupções vulcânicas, e o restante são de fontes antropogênicas<sup>23</sup>.

As principais fontes antropogênicas de As decorrem da fundição de metais não ferrosos, produção de energia pela combustão de combustíveis fósseis ou carvão, produção e

uso de agrotóxicos e compostos arsenicais para preservação da madeira e das atividades de mineração<sup>21</sup>.

Dentre os compostos arsenicais mais utilizados, podemos destacar o trióxido de arsênio ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ), que se destina à preservação da madeira, evitando a sua deterioração e o ataque de insetos. A mistura mais comum é a que contém  $\text{CrO}_3$ ,  $\text{CuO}$  e  $\text{As}_2\text{O}_3$ , conhecida como CCA<sup>24</sup>. O  $\text{As}_2\text{O}_3$  também é usado, juntamente com o ácido arsênico, como descolorante, clareador e dispersante de bolhas de ar na produção de garrafas de vidro e outras vidrarias. O As elementar é usado na produção de ligas não-ferrosas, principalmente ligas de Pb, para fabricação de baterias e para melhorar a resistência do latão à corrosão. Os compostos intermetálicos são usados na fabricação de semicondutores, incluindo diodos de emissão de luz e laser, circuitos integrados e células solares<sup>25</sup>.

O uso do As e de seus derivados no controle de insetos em jardins teve início na época dos romanos, sendo empregado pelos chineses até a Segunda Guerra Mundial. O "Verde de Paris", por exemplo, que é um sal de cobre que contém o íon arsenito,  $\text{AsO}_3^{-3}$ , foi um inseticida de uso popular introduzido nos Estados Unidos em 1867. Outros sais contendo esse íon ou o íon arsenato,  $\text{AsO}_4^{-3}$ , como os arsenatos de Pb e de Ca, também foram utilizados para este fim, em 1892 e 1907, respectivamente. Todos esses compostos atuam como venenos estomacais, matando os insetos que os ingerem<sup>25</sup>. Compostos químicos tóxicos, à base de As, Hg e Pb, continuaram sendo amplamente utilizados como agrotóxicos durante as décadas de 30 e 40 e no início da década de 50.

Os compostos inorgânicos de As foram usados nas culturas de algodão, maçã e batata, no combate às pragas, da metade do século XIX até meados do século XX. Posteriormente, a utilização desses compostos caiu em desuso devido à alta toxicidade dos mesmos e ao desenvolvimento de outros agrotóxicos orgânicos mais eficientes. No entanto, nos Estados Unidos, ainda hoje, é permitido o uso de alguns agrotóxicos organoarsenicais<sup>26</sup>.

No Brasil, o herbicida metanoarseniato ácido monossódico (MSMA), comercialmente conhecido como Daconate, de curta persistência, é autorizado para aplicação nas culturas de ervas daninhas de café, algodão, cana-de-açúcar e "cítrus". Também, o ácido p-aminofenilarsônico é usado, sendo misturado nas rações para aves e suínos, como promotor do crescimento e no controle de enteropatites em perus<sup>23</sup>.

#### 2.2.1.4 TOXICIDADE DO ARSÊNIO

Em 1988, a Agência Americana de Proteção Ambiental (USA-EPA) considerou o As um elemento carcinogênico do grupo A, conhecido por causar câncer de pele, bexiga e pulmão. Ele pode atravessar a barreira placentária, produzindo morte fetal e má formação em muitas espécies animais, incluindo o homem. A exposição humana ao As pode se dar de várias maneiras, sendo através da água de beber uma das mais importantes<sup>24,27</sup>.

Bioquimicamente, o As atua coagulando proteínas, formando complexos com coenzimas e inibindo a produção de adenosina trifosfato (ATP) em processos metabólicos que envolvam a utilização de energia<sup>28</sup>. Entretanto, os mecanismos de ação tóxica diferem conforme a forma química e o estado de oxidação do As.

A absorção dos compostos inorgânicos de As, tanto por via inalatória quanto por via digestiva, está associada a sua solubilidade em água<sup>22</sup>. Estes compostos têm ótima taxa de absorção pelo trato gastrointestinal intacto (TGI), variando de 55 a 95%, dependendo se o As estiver na forma de ânion arsenito ou arsenato. Formas insolúveis de As tais como  $As_2Se_3$ , são, praticamente, não absorvíveis pelo TGI.

Os compostos solúveis de As inorgânico, depois de absorvidos, são distribuídos para praticamente todos os órgãos e tecidos do corpo. Estudos realizados em autópsias de pessoas sujeitas à exposição não - ocupacional, mas que tenham ingerido alimentos contaminados ou água contaminada por As, mostraram que existe uma tendência do As acumular-se em tecidos com queratina tais como cabelo e unhas e, tendência oposta, à pouca deposição e acúmulo em vísceras, por exemplo<sup>29</sup>. A hierarquia de depósito de As nos órgãos poderia ser definida na seguinte ordem: fígado → rins → músculos → coração → baço → pâncreas → pulmões → cérebro (cerebelo → tecido encefálico) → pele → sangue<sup>30</sup>.

Diferentemente de outros elementos tóxicos, como o Pb e o Cd, o As sofre biotransformação, envolvendo basicamente dois processos. Um deles é a conversão de As (III) em As (V) por reação de oxi-redução. O outro processo envolve a metilação do As, principalmente, nas células hepáticas com produção de dois metabólitos básicos: o MMA e o DMA. Esse processo de metilação parece diminuir a toxicidade do arsênio inorgânico absorvido, pois as formas orgânicas metiladas tem menor toxicidade e são mais facilmente excretáveis pela urina. As espécies mais tóxicas do As, como o arsenito ( $AsO_3^{-3}$ ) e arsenato

(AsO<sub>4</sub><sup>-3</sup>), têm sido ligadas ao incremento do risco de câncer, além de doenças cardiovasculares. As formas metiladas do As, tais como ácido metilarsônico (MMA) e ácido dimetilarsínico (DMA), são significativamente menos tóxicas que as formas inorgânicas. Porém, alguns estudos mais recentes apontam para uma possível toxicidade direta quanto à carcinogênese e nefrotoxicidade das formas metiladas em animais de experimentação, em níveis semelhantes às formas inorgânicas não metiladas<sup>31</sup>. A principal via de excreção do As no ser humano é a urina e apenas uma quantidade mínima é excretada *via* bile.

Conforme o que foi relatado e devido ao perigo que o As representa para a saúde humana e para o meio ambiente, as organizações internacionais estabelecem 50 µg L<sup>-1</sup> como concentração máxima para o As total em água potável<sup>32</sup>.

Devido ao elevado grau de toxicidade do As inorgânico, que pode contribuir para diversos tipos de câncer, foi estabelecido pelo Comitê de Especialistas sobre Aditivos em Alimentos da Organização Mundial de Saúde (JECFA/FAO/WHO), um valor provisional de ingestão semanal máxima tolerável (PTWI) de 0,015 mg por Kg de peso corpóreo. O *Codex Alimentarius*<sup>33</sup> alterou o limite máximo de 50 µg L<sup>-1</sup> para 10 µg L<sup>-1</sup> de As em água, conforme a Organização Mundial da Saúde. Sendo assim, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão responsável pelo controle de substâncias tóxicas na água e alimentos alterou, também, o limite de As de 50 µg L<sup>-1</sup> para 10 µg L<sup>-1</sup>. O As é listado juntamente com outras sete substâncias, pela *National Emission Standards for Hazardous Air Pollutants* (NESHAPS), como um dos mais perigosos poluentes atmosféricos<sup>34,35</sup>.

Os altos níveis de toxicidade de As são muito bem conhecidos, pois compostos de As são facilmente absorvidos, tanto oralmente quanto por inalação, sendo a extensão da absorção dependente da solubilidade do composto. Na Tabela 1 são apresentadas algumas espécies de As de interesse em estudos de especiação, com seus respectivos valores de pka, que proporcionam uma ideia das formas possíveis em função do pH<sup>36</sup>.

**Tabela 1.** Compostos de As de interesse em estudos de especiação. Extraído de Demesmay *et al.* 1994<sup>36</sup>.

Composto	Fórmula	pKa
Arsina	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{As} \\   \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	-
Ácido arsenioso As(III)	$\text{O}=\text{As}-\text{OH}$	9,3
Ácido arsênico As(V)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\   \\ \text{O}=\text{As}-\text{OH} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	2,3; 6,9 e 11,4
Ácido monometilarsônico MMAA(V)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\   \\ \text{O}=\text{As}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	3,6 e 8,2
Ácido dimetilarsínico DMAA(V)	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{OH} \\ \diagdown \quad / \\ \text{As} \\ / \quad \diagdown \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \end{array}$	1,6 e 6,2
Arsenobetaína (AsB)	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}^+-\text{CH}_2-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	4,7
Arsenocolina (AsC)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	-

## 2.3 CONTAMINAÇÃO DE ALIMENTOS E ÁGUA POR ARSÊNIO

Nas duas últimas décadas houve progresso no entendimento das formas químicas do As e respectivas concentrações em alguns alimentos. O foco das primeiras pesquisas foi o As em organismos aquáticos, nos quais a concentração de As total foi duas a três vezes maior que a encontrada em alimentos de origem terrestre.

As formas de As, geralmente de origem inorgânica, presentes em alimentos de origem terrestre, não estão bem caracterizadas devido a sua ocorrência em concentrações muito baixas, da ordem de  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , em contraste às formas metiladas encontradas em frutos do mar, que ocorrem em concentrações ao nível de  $\text{mg kg}^{-1}$  e, por isso, têm sido mais amplamente pesquisadas<sup>37-39</sup>.

Em Bangladesh, estima-se que 300.000 pessoas já morreram de câncer devido à contaminação da água por As, cuja concentração é superior a  $2000 \mu\text{g L}^{-1}$ . As águas contaminadas são usadas para beber e para irrigar plantações; particularmente, os arrozais que correspondem a mais ou menos 70% da economia de Bangladesh. A concentração de As encontrada em amostras de arroz foi de 4 a  $8 \text{ mg kg}^{-1}$  e, nas áreas mais contaminadas, a concentração chegou a  $83 \text{ mg kg}^{-1}$ <sup>40</sup>. Na cidade de Lakshmipurno, leste de Bangladesh, onde a população é de 1,2 milhões de pessoas, 85% da população tem no sangue concentração de As superior a  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ <sup>37,41</sup>.

Os Estados Unidos também tem tido problemas com respeito à contaminação da água e de alimentos, por As. Um dos casos mais recentes ocorreu em algumas regiões do estado de Wisconsin, onde foi constatada a contaminação de arroz por As, sendo que a concentração de As encontrada no arroz oriundo dessas regiões foi em torno de 2 a  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ <sup>42</sup>.

No estado americano de Nevada, um estudo feito entre 1979 e 1999, revelou um alto índice de câncer em crianças expostas à água contaminada, cuja concentração de As encontrada variou de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $90 \mu\text{g L}^{-1}$ <sup>43</sup>.

Os casos acima citados não são isolados, pois existem várias regiões da Ásia (da China, Tailândia e Taiwan) onde o consumo de As é de 0,002 mg/dia, podendo chegar a  $0,03 \text{ mg kg}^{-1}$ . Isto se dá devido à ingestão de arroz contaminado<sup>38</sup>. No Vietnam, que tem uma das maiores densidades populacionais, milhões de pessoas correm os riscos de uma intoxicação crônica por As, devido à contaminação do delta do Rio Vermelho, onde a concentração de As



varia de 1 a 3050  $\mu\text{g L}^{-1}$ , sendo que em 89% das cidades rurais estudadas a concentração de As na água potável utilizada foi superior ao limite estabelecido pelas legislações que é de 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ <sup>44</sup>.

Um estudo realizado na Espanha<sup>39</sup> mostrou que o arsenito de sódio ( $\text{NaAsO}_2$ ) e o arsenato de chumbo ( $\text{Pb}(\text{AsO}_3)_2$ ) são usados, frequentemente, em plantações de tomate. A concentração média de As encontrada em tomate foi  $1\text{mg kg}^{-1}$ , considerando-se que a média de água no tomate é em torno de 90%. As concentrações encontradas, em base seca, foram até  $5\text{mg kg}^{-1}$  de iAs e  $26\text{mg kg}^{-1}$  de As orgânico. O estudo mostrou que os pesticidas à base de As usados nas plantações, tanto de As na forma orgânica quanto inorgânica, se acumulam nos vegetais e frutas, tornando-os impróprios para os seres humanos<sup>39</sup>.

Na América Latina foram relatados casos de contaminação da água potável por As, como o ocorrido no México, onde foram encontradas concentrações de As que variavam de 30 a 40  $\mu\text{g L}^{-1}$ , cuja população apresentava graves lesões de pele<sup>45</sup>.

Em função do risco que a ingestão de As representa à saúde, a Comissão do *Codex Alimentarius*<sup>33</sup> sugeriu um estudo epidemiológico em pessoas expostas a níveis elevados de iAs, que ocorre naturalmente em água e alimentos. O estudo ainda não foi finalizado e, cada vez mais, se confirma a toxicidade e o risco que o As representa para saúde da população mundial<sup>46</sup>.

No Brasil, a legislação vigente, que estabelece os limites máximos de tolerância para As em alimentos, é a Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998 da (ANVISA)<sup>47</sup>. Os limites estabelecidos pela portaria nº 685 estão indicados na Tabela 2 e para todos os outros alimentos que não são citados nesta portaria é adotado, como limite máximo, o valor de  $1\text{mg kg}^{-1}$ <sup>47,48</sup>.

**Tabela 2.** Limites máximos de tolerância para As em alimentos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), segundo a ANVISA<sup>47,48</sup>.

Alimentos	Limite máximo de arsênio ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
Gorduras vegetais e emulsões	0,1
Gorduras hidrogenadas	0,1
Açúcares, caramelos e balas	1,0
Bebidas alcóolicas destiladas e fermento-destiladas	0,1
Cereais e produtos de cereais	1,0
Gelados comestíveis	1,0
Ovos e produtos de ovos	1,0
Leites e fluídos pronto para o consumo.	0,1
Mel	1,0
Peixes e produtos de peixe	1,0
Chá, mate, café e derivados.	1,0
Demais alimentos	1,0

A FAO/WHO (World Health Organization) estabelece o limite máximo em  $2,1 \mu\text{g}$  de As por kg de peso corporal, como consumo diário.

Com relação ao arroz brasileiro, tanto a concentração total de As e espécies do elemento presentes já foram detectadas em arroz submetido a diferentes processamentos. No trabalho realizado por Barbosa *et al.*<sup>16</sup>, utilizando ICP-MS em conjunto com a cromatografia a líquido (LC), foi possível estimar o quanto diariamente os brasileiros consomem de As e determinadas espécies do elemento, mediante a ingestão de arroz. Foi estimado um consumo diário de As (III), As (V), MMA e DMA em  $7,72 \mu\text{g}$ ;  $3,45 \mu\text{g}$ ;  $0,71 \mu\text{g}$  e  $7,49 \mu\text{g}$ , respectivamente, considerando um consumo diário de  $86,5 \text{ g}$  de arroz por pessoa.

### 2.3.1 OUTROS ELEMENTOS TÓXICOS ENCONTRADOS EM ARROZ

No Japão, na década de 1950, ocorreram vários casos da doença de Itai-itai, que é um distúrbio do metabolismo do cálcio, levando à osteoporose e osteomalácia. O responsável por esta doença era a contaminação por Cd. Existe registro de que no arroz integral do Japão,

proveniente de locais não contaminados, a concentração de Cd era 0,01 a 0,2  $\mu\text{g g}^{-1}$  e em média de 0,06  $\mu\text{g g}^{-1}$ , enquanto que nos locais contaminados a concentração era 0,1 a 4,2  $\mu\text{g g}^{-1}$ <sup>50</sup>. Na China, foi verificado que com o aumento da concentração total de Cd no solo ocorria aumento da concentração deste elemento no grão de arroz<sup>51</sup>.

No Brasil limite máximo de Cd em arroz é 1  $\mu\text{g g}^{-1}$ <sup>47,48</sup>. A FAO/WHO estabelece como limite máximo o consumo diário de 0,1  $\mu\text{g}$  de Cd por kg de peso corporal.

A concentração de Pb em arroz do Japão foi determinada por Shimbo *et al.*<sup>52</sup>, que encontrou concentrações entre 2 e 3  $\text{ng g}^{-1}$ . Em arroz proveniente de vários locais da China a concentração média de Pb encontrada foi em torno de 113,5  $\text{ng g}^{-1}$ <sup>53</sup>. Na China, foi verificado que com o aumento da concentração total de Pb no solo ocorria aumento da concentração deste elemento nos grãos de arroz<sup>51</sup>, conforme já citado para Cd. No Brasil, o limite máximo de Pb em arroz é 0,8  $\mu\text{g g}^{-1}$ . A FAO/WHO estabelece como limite máximo o consumo diário de 3,6  $\mu\text{g}$  de Pb por kg de peso corporal.

Um estudo realizado em uma área de mineração da China, cujo solo estava contaminado com Tl, mostrou uma concentração de Tl entre 1 e 5,2  $\mu\text{g g}^{-1}$ , com média de 2,4  $\mu\text{g g}^{-1}$  em arroz com casca, demonstrando que a planta consegue absorver o Tl presente no solo<sup>54</sup>.

## 2.4 ANÁLISE POR ESPECIAÇÃO QUÍMICA

Para a identificação e quantificação das espécies químicas de um elemento, presentes em uma amostra, o termo especiação vem sendo empregado amplamente, porém com diferentes significados, incluindo a transformação das espécies e sua distribuição, entre outros. Numa tentativa de organizar as terminologias, três divisões da “International Union of Pure and Applied Chemistry” (IUPAC) elaboraram o documento “Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions structural aspects, and methodological approaches”<sup>55</sup>.

Algumas vezes, o termo especiação química é utilizado com o significado de informar a forma em que o elemento se encontra presente como, por exemplo, distinguir derivados organomercuriais de outros compostos de mercúrio. A IUPAC sugere a denominação de análise de especiação química quando for feita referência à atividade analítica de identificação

e medição de espécies químicas. Finalmente, o termo também é utilizado para indicar a distribuição de espécies em determinada amostra. A IUPAC recomenda que o termo especiação seja usado desta forma<sup>55</sup>.

Com referência à especiação química, geoquímicos e químicos ambientais utilizam o termo especiação para descrever transformações químicas que um mesmo elemento sofre durante determinados processos. O termo especiação também é frequentemente utilizado para indicar a atividade de espécies químicas e medidas de sua distribuição.

A importância da análise de especiação química para a ciência ambiental, biologia e medicina reflete-se na crescente quantidade de artigos e livros publicados, congressos dedicados ao tema e no constante progresso alcançado. A principal razão é que a toxicidade, biodisponibilidade, o transporte e em suma, as propriedades físico-químicas de um elemento podem diferir grandemente, dependendo de sua forma química<sup>56,57</sup>. Logo, informar o conteúdo total de um elemento não é suficiente na avaliação de seu potencial de ação. O desenvolvimento de métodos analíticos precisos e seletivos para a determinação das diferentes espécies de um elemento é, pois, de extrema importância para uma estimativa realista dos riscos toxicológicos e ação no meio ambiente<sup>58</sup>.

#### **2.4.1 ESPECIAÇÃO DE ARSÊNIO EM ALIMENTOS**

O iAs compreende as espécies mais tóxicas do elemento presentes em alimentos e água. Foi classificado pela “*International Agency for Research on Cancer*” (IARC) como cancerígeno para os seres humanos<sup>59</sup>.

Para a avaliação do impacto ambiental, o conhecimento do conteúdo total de As fornece pouca informação, uma vez que as diferentes espécies de As conferem diferentes graus de toxicidade nos diversos ambientes. Nos ambientes aquáticos, o As pode existir sob forma solúvel, adsorvido a partículas sólidas, complexado a colóides e/ou ácidos húmicos, entre outros; a coexistência de várias espécies nas interfaces água-sedimento, água-ar, e sedimento-ar é possível<sup>60</sup>.

Tanto a redução quanto a metilação do As podem ocorrer mediante processos químicos ou microbiológicos. A biota pode absorver o íon arsenato ( $\text{AsO}_4^{-3}$ ), reduzindo-o a

arsenito ( $\text{AsO}_3^{-3}$ ) e metilar o As, produzindo espécies menos tóxicas, como os ácidos monometilarsênico-MMA (V) e o dimetilarsênico-DMA (V), que são finalmente excretados.

Alguns autores<sup>61-63</sup> relataram a presença de As em sedimento e solo, majoritariamente como As(III) e As (V), sendo que o DMA (V) e o MMA (V) não foram detectados, ou encontrados em níveis menores de 5% do conteúdo total de As. A presença de MMA (III) e de DMA (III) foi detectada na urina de pessoas que consumiam água com teores elevados de As<sup>64</sup>. Cerca de 24 espécies de arsênio podem ser detectadas atualmente nos sistemas ambientais e biológicos. É importante considerar que muitas pesquisas têm sido realizadas com respeito à especiação química de As em organismos marinhos. No entanto, poucos estudos têm sido realizados em relação à especiação química de As em alimentos de origem terrestre, onde as espécies de As encontram-se ao nível de  $\text{ng g}^{-1}$ <sup>65-67</sup>.

Estudos de análise de especiação química de As em frutos do mar<sup>68,69</sup>, peixes<sup>70-72</sup> e cereais<sup>72,73</sup> são os mais frequentes. Existem apenas alguns poucos estudos de análise de especiação química de As em vegetais cultivados em solos com níveis normais de As<sup>74-77</sup>, onde as espécies de As presentes não são detectadas mediante a instrumentação analítica convencionalmente disponível. Helgesen and Larsen<sup>74</sup> compararam as espécies de As presentes em cenoura cultivada em solos contaminados e não contaminados, enquanto que Heitkemper *et al.* determinaram as espécies de As presentes em cenoura, maçã<sup>76</sup> e em produtos para alimentação infantil<sup>77</sup>. Entretanto, a maior parte dos estudos foi realizada em plantas terrestres cultivadas em substratos propositalmente contaminados<sup>74,78-82</sup>. Barbosa *et al.*<sup>16</sup> realizaram análise de especiação química em arroz polido e integral brasileiros, mediante LC-ICP-MS. As espécies iAs, MMA e DMA foram detectadas e quantificadas no arroz.

A determinação de diferentes formas químicas de um elemento envolve duas técnicas complementares. A primeira promove uma separação eficiente e segura, enquanto que a outra promove uma detecção e quantificação adequada. Como a maioria dos elementos está presente na forma iônica ou polar na matriz da amostra, a determinação direta destas espécies é limitada. Contudo, procedimentos que convertem as espécies de interesse em compostos voláteis e termodinamicamente estáveis podem ser utilizados. Neste sentido, a técnica de geração de hidretos (HG) tem sido aplicada juntamente a outras técnicas de detecção para a análise de especiação química de As<sup>64</sup>.

A análise de especiação química de As mediante HG envolve a redução do iAs, MMA e DMA aos seus respectivos hidretos voláteis, separando as várias espécies de As da respectiva matriz, e pré-concentrando-as em colunas cromatográficas submetidas à baixa temperatura. Posteriormente, as espécies são liberadas seletivamente, por aquecimento, antes da detecção. Este processo é também conhecido como “cryotrapping” e se aplica também a outros elementos formadores de hidretos, além de As. Embora esse método seja muito sensível, sua precisão depende fortemente da vazão do gás de purga, do tipo de fase adsorvente e do tamanho da coluna de trapeamento, assim como da vazão do gás de arraste para o detector (ICP-MS, ICP-OES, AFS, AAS)<sup>83-85</sup>.

Técnicas cromatográficas tais como a LC, permitem a separação de um grande número de espécies organometálicas, tendo-se em vista os diferentes tipos de coluna comercialmente disponíveis (adsorção, troca iônica, permeação em gel e fase reversa). No entanto, é necessário associar o cromatógrafo a detectores de alta sensibilidade, de maneira que a determinação das diferentes espécies do elemento seja viável, apesar de se encontrarem em baixos níveis de concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$  ou  $\text{ng L}^{-1}$ ).

Nos últimos dez anos foram desenvolvidos muitos métodos para a análise de especiação química de baixas concentrações de As orgânico e inorgânico, associando as técnicas cromatográficas LC e GC a um detector específico. A determinação quantitativa de uma mistura de espécies de As em matrizes complexas, normalmente, requer o poder de separação de um método cromatográfico e um sistema específico de detecção de As.

#### **2.4.2 MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A ESPECIAÇÃO QUÍMICA**

Historicamente, os esforços da química analítica instrumental foram focados na redução de limites de detecção e na ampliação da faixa linear das curvas analíticas. Embora os detectores mais robustos provejam atualmente limites de quantificação da ordem de partes por trilhão, tanta sensibilidade pode se tornar desnecessária, uma vez que o erro absoluto introduzido nas diferentes etapas do processo analítico pode ser de uma ordem de magnitude maior. O erro introduzido durante o preparo das amostras pode atingir 50% do erro total, entretanto este erro pode ser ainda maior se considerarmos o preparo da amostra para análise de especiação química, que envolvam matrizes complexas, baixas concentrações das espécies

e distribuição heterogênea das mesmas, implicando na necessidade de implementar procedimentos adicionais como purificação e/ou pré-concentração. Portanto, a avaliação de processos de amostragem, preservação das espécies e melhorias na eficiência de recuperação das espécies durante o preparo de amostras são de vital importância, constituindo-se estes parâmetros no principal objetivo do desenvolvimento de metodologias para análise de especiação química<sup>86,87</sup>.

Devido à ampla abrangência da palavra especiação e as inúmeras abordagens sobre este tema encontrados na literatura, neste capítulo considera-se prioritariamente a análise de especiação química de compostos de As. Apresenta-se uma revisão do estado da arte em preparo de amostras para análise de especiação química, empregando extração assistida por microondas e por ultrassom e, ainda, amostragem por suspensão.

Nesta revisão priorizou-se a amostragem na forma de suspensão e também a ocorrência de possíveis interconversões das espécies nos procedimentos de extração.

#### **2.4.2.1 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

As metodologias mais usadas para extração de espécies de As são a sonicação e a radiação microondas. A extração acelerada por solvente, por fluido supercrítico e Soxhlet são eventualmente utilizadas. A sonicação favorece a homogeneização de amostras sólidas. A extração assistida por microondas envolve aquecimento das amostras com solvente ou combinação destes, gerando a partição das espécies entre as fases. Os solventes mais comumente utilizados são: água, metanol/água em diferentes proporções e etanol/água/clorofórmio<sup>89</sup>.

Gómez-Ariza *et al.*<sup>81</sup> pesquisaram procedimentos de extração, concentração e derivatização, prévias à separação cromatográfica, para determinação de espécies de As em amostras ambientais. A acidificação é comum em amostras de água e outros líquidos para deter ou minimizar atividades biológicas. Entretanto, este procedimento não é recomendado quando as amostras contêm espécies organo-metálicas, uma vez que estas são degradadas em condições ácidas. Nestes casos, são comumente utilizados solventes tais como tolueno e metanol<sup>89</sup>. Feldman *et al.* pesquisaram o efeito do ácido clorídrico (HCl) e alguns aditivos como nitreto sódico (NaN<sub>3</sub>), cloreto de trimetil benzil amônia, ácido benzóico, cloreto de

cetilpiridínio e metanol sobre espécies de As em amostras de urina, relatando a degradação dos compostos organoarseniacaís em amostras acidificadas na presença de alguns destes aditivos<sup>90</sup>.

A extração de espécies organoarseniacaís, assistida por micro-ondas, metanol e mistura de metanol-água, tem sido relatada<sup>91,92</sup>. Na extração de espécies de As em ostras, em banho ultrassom, não foram evidenciadas diferenças significativas na eficiência de extração quando empregados os solventes água, metanol e metanol-água (1:1)<sup>93</sup>. Diversos autores relataram também a utilização de enzimas nos processos de extração<sup>94-98</sup>. A extração de As mediante agitação com água foi descrita, com eficiência de extração de As total na faixa de 57 a 81%, para amostras de mexilhões<sup>99</sup>. Na comparação de métodos de extração mediante agitação manual, sonicação, extração acelerada por solvente e irradiação por microondas, a eficiência da extração em água e irradiação por microondas foi 100% e 50% quando a água foi substituída por metanol. Entretanto, as extrações mediante agitação manual e sonicação foram 30% e 20% menores, respectivamente<sup>100</sup>. Yuan *et al.*<sup>102</sup> compararam métodos de extração, empregando cinco tipos diferentes de solvente para a extração por Soxhlet, sonicação, agitação manual e utilização de microondas. A melhor eficiência de extração foi conseguida com uma mistura etanol-água e utilização de microondas, enquanto que a menor eficiência foi observada quando empregado metanol puro. Outros trabalhos realizados com respeito a procedimentos de extração para análise de especiação química de As são encontrados na revisão publicada por Wrobel *et al.*<sup>103</sup>.

A temperatura e a forma de cocção dos alimentos também podem modificar as espécies de As e a concentração das mesmas. Neste sentido, Devesa *et al.* apresentaram, recentemente uma completa revisão sobre os efeitos da temperatura durante a cocção de alimentos ricos em As<sup>104</sup>.

#### **2.4.2.1.1 EXTRAÇÃO POR MICROONDAS**

A extração assistida por microondas encontra-se amplamente difundida em função da eficiência e rapidez no preparo de amostras, quando comparada com procedimentos tradicionais. O emprego de baixas potências (entre 20 e 90 W) e pressões normais torna possível a extração de compostos organometálicos, sem afetar as estruturas das moléculas dos



mesmos, em amostras biológicas e ambientais. No entanto, parâmetros como solvente empregado, potência e tempo aplicados precisam ser cuidadosamente avaliados para evitar perda do analito ou interconversões indesejadas<sup>95</sup>. Nóbrega *et al.* publicaram um artigo de revisão sobre o emprego de microondas para análise de especiação química de Sn, As, Hg e Se em diversas matrizes<sup>106</sup>.

Mediante um procedimento desenvolvido para extração de espécies de As em mexilhões, aplicando uma potência de 40 W por 4 min, 85% do As total foi extraído<sup>91</sup>. Empregando uma mistura metanol-água e aquecimento a 65°C durante 4 minutos, a extração de As em material certificado de peixe foi 100%<sup>107</sup>.

A extração de  $\text{AsO}_3^{-3}$ ,  $\text{AsO}_4^{-3}$  e DMAs assistida por microondas, em amostras de farinha de arroz, empregando água como meio de extração, foi próxima de 100%, sem que fossem detectadas alterações das espécies de arsênio<sup>100</sup>. No entanto, a extração foi de 50% quando empregado metanol como meio extrator. Em outro trabalho, a eficiência de extração foi de 96-105%, quando utilizada uma mistura metanol-água (1:1) na extração assistida por microondas, para espécies de As em amostras de camarão e ostras<sup>108</sup>.

#### **2.4.2.1.2 EXTRAÇÃO POR ULTRASSOM**

A extração assistida por ultra-som, seja por sonda focalizada ou banho ultrassom, foi primeiramente empregada para determinação de teores totais de elementos químicos. No entanto, o emprego da extração assistida por ultrassom em estudos de especiação química, principalmente mediante banho ultrassom, cresceu nos últimos anos. O emprego de ultrassom permite uma melhor homogeneização do meio aquoso solvente/soluto das amostras onde estão as espécies a serem extraídas. A cavitação, fenômeno caracterizado pela geração e implosão de bolhas no meio, atingindo temperaturas próximas a 5000 °C e pressões da ordem de 1000 atmosferas causa erosão mecânica dos sólidos e ruptura de partículas. Por outro lado, no meio líquido se formam íons que tendem a reduzir ou oxidar espécies químicas. Por exemplo, quando empregada água como solvente em extração por ultrassom, são formados radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio<sup>109</sup>. Caruso *et al.* relataram o emprego de ultrassom e solvente metanol:água (50:50), para extração de espécies de As em amostras de maçã. Para

a extração em banho ultrassom durante 6 horas, a porcentagem de recuperação foi 72 a 97%. Entretanto, a extração foi melhorada consideravelmente (81 a 104%) quando as amostras foram tratadas com  $\alpha$ -amilase, previamente à extração em banho ultrassom<sup>110</sup>.

A eficiência do ultrassom na extração de espécies de As em ostra foi avaliada, mediante os solventes água e metanol-água (50:50). O procedimento consistiu em submeter uma porção da amostra a duas extrações consecutivas por uma hora para cada extração em banho ultrassom. Independentemente do solvente empregado, somente 53% do As total foi extraído<sup>93</sup>.

Uma eficiência de extração de 102% para amostras de camarão e 96% para material certificado de peixe foi conseguido mediante emprego de metanol-água (50:50) como solvente. Nessa pesquisa, a mesma alíquota da amostra foi submetida a três extrações por 30 minutos cada uma em banho ultrassom. Segundo os autores, variações na composição da mistura extratora e no pH do solvente não levaram a melhoras significativas na eficiência de extração<sup>111</sup>. Estudos de estabilidade das espécies de As durante o processo de extração com metanol-água e metanol-clorofórmio-água não evidenciaram degradação de seis espécies de As adicionadas. Contudo, quando foi empregada uma mistura tripsina-carbonato de amônio foi evidenciada a oxidação de arsenito ( $\text{AsO}_3^{-3}$ ) para arsenato ( $\text{AsO}_4^{-3}$ ). A mistura metanol-água foi mais eficiente na extração do que a mistura metanol-clorofórmio-água para as seis espécies de As (As (III), As (V), AsB, AsC, MMA e DMA) adicionadas<sup>111</sup>.

Wahlen *et al.* relatam excelente recuperação de AsB em materiais certificados de tecido de peixe e frutos do mar, empregando água como solvente extrator, com previa agitação manual por 10 minutos, seguido de extração em banho ultrassom à temperatura ambiente durante 20 minutos e posterior centrifugação. No entanto, a extração de DMAs não foi eficiente<sup>112</sup>. Para especificação de As em algas provenientes da Antártica, a extração em banho ultrassom, com uma mistura metanol-água (50:50) durante duas horas a 30°C foi aplicada. A eficiência de extração do As total foi 83 a 108%<sup>113</sup>.

#### **2.4.2.2 AMOSTRAGEM POR SUSPENSÃO**

A simplicidade, rapidez e praticidade no tratamento da amostra, no sentido de minimizar a participação humana nas etapas do processo analítico, tornaram-se necessidades

básicas nos laboratórios de rotina. É neste contexto que a amostragem de suspensão tornou-se aceitável no controle de qualidade e na análise qualitativa e quantitativa.

A amostragem por suspensão foi introduzida por Brady *et al.*<sup>114</sup> em 1974, e desde então muitos trabalhos a respeito do assunto foram publicados<sup>115-117</sup>. Ela combina vantagens dos métodos de amostragem direta de sólidos e da amostragem líquida. Entre as vantagens com relação à amostragem sólida pode-se citar a menor manipulação da amostra e, conseqüentemente, um menor risco de contaminação e perda do analito, além da maior rapidez de análise. No que diz respeito à amostragem líquida, cita-se a maior homogeneização da amostra.

Entre as limitações da amostragem de suspensão está a necessidade de manter a estabilidade da suspensão até a determinação do analito. Para suspensões diluídas a precisão pode ser ruim devido ao menor número de partículas distribuídas no volume final. Por outro lado, suspensões concentradas podem ocasionar maior efeito de matriz.

A análise de suspensão requer atenção a muitas variáveis, tais como homogeneidade, presença de agentes estabilizantes, tamanhos de partícula, moagem e peneiramento, entre outros. A escolha do solvente para o preparo de suspensões também pode ser de vital importância, pois o mesmo deve auxiliar na extração do analito para a fase líquida sem alterar a forma química do mesmo.

#### **2.4.2.2.1 HOMOGENEIZAÇÃO**

Os progressos relacionados à técnica da amostragem de suspensão são baseados no desenvolvimento de mecanismos efetivos de homogeneização e estabilização da suspensão. A homogeneização pode ser obtida por agitação manual da amostra, ou pela estabilização das partículas mediante o uso de agentes que aumentem a viscosidade da suspensão.

Agentes estabilizantes homogeneizam a suspensão, dispersando aglomerados e/ou diminuindo a velocidade de sedimentação das partículas. A velocidade de sedimentação depende da viscosidade do meio, do raio das partículas da amostra e da densidade do solvente e do material sólido<sup>115</sup>. Erros elevados de quantificação ocorrem para partículas de alta densidade, que tem uma velocidade de sedimentação mais rápida.

Entre os agentes estabilizantes podem-se citar os surfactantes não-iônicos, como o Triton<sup>®</sup> X-100, Viscalex, glicerol, aerosol OT, hexametáfosfato, entre outros. A capacidade de estabilização desses agentes é extremamente dependente das características da amostra (tais como tamanho de partícula e densidade) e da concentração do agente estabilizante. Agentes estabilizantes são indispensáveis, por exemplo, quando se trata de materiais geológicos (amostras de alta densidade). Em relação à concentração da suspensão, esta deve ser cuidadosamente avaliada, pois concentrações altas podem aumentar o sinal do branco e as interferências químicas<sup>118</sup>.

No que diz respeito aos sistemas de agitação pode-se citar:

a) Agitação manual: a agitação manual é o modo mais simples e econômico. Esse modo de agitação só é eficiente quando um agente estabilizante é usado em conjunto, quando são analisadas amostras compostas por partículas de alta densidade e que se sedimentam facilmente.

b) Agitadores mecânicos: as barras magnéticas e os misturadores por efeito vórtex são sistemas muito aplicados devido à simplicidade operacional e baixo custo. Miller-Ihli<sup>119</sup> utilizou agitação mecânica para volumes de amostra de cerca de 10 mL, com partículas de alta densidade.

c) Borbulhadores de gás: neste tipo de sistema um gás é borbulhado continuamente dentro da suspensão a ser amostrada.

d) Agitadores ultrassônicos: banho e sonda são utilizados. Em algumas situações, as duas alternativas são utilizadas em conjunto para o preparo da suspensão. Além de desagregar aglomerados de partículas, dependendo da capacidade de dissipar a energia ultrassônica, esses sistemas também são capazes de reduzir o tamanho de partícula. Assim, um aumento na precisão pode ocorrer devido à maior extração do analito para a fase líquida da suspensão.

#### **2.4.2.2.2 TAMANHO DE PARTÍCULA**

Outro fator importante quando se trata de suspensão é o tamanho das partículas do material sólido, que influencia na estabilização, na eficiência de extração e/ou atomização e, conseqüentemente, na precisão das medidas<sup>120</sup>.

O tamanho das partículas também pode influenciar na homogeneidade da suspensão, afetando a velocidade de sedimentação, isto é, quanto maior é o tamanho das partículas maior é a velocidade de sedimentação e mais difícil é a liberação da espécie de interesse da matriz. Além disso, partículas maiores podem ocluir acessórios de sistemas de nebulização de amostras como, por exemplo, em AAS e ICP OES. Em alguns casos, há a necessidade de se analisar suspensões com partículas pequenas, muitas vezes, na ordem de  $1 \mu\text{m}^{121}$ . No entanto, a maioria dos erros associados ao tamanho das partículas pode ser minimizada por meio da moagem e peneiramento da amostra. Além disso, a sonicação também pode auxiliar na diminuição de erros associados ao tamanho das partículas da amostra.

## **2.5 TÉCNICAS DE DETECÇÃO**

### **2.5.1 ESPECTROMETRIA ATÔMICA**

A espectrometria atômica é usualmente empregada para determinação de metais, metaloides e não metais. As técnicas de espectrometria atômica envolvem a absorção ou emissão dos átomos ou íons da amostra na região ultravioleta ou visível do espectro eletromagnético. A amostra a ser analisada, geralmente na forma líquida, é decomposta e a solução introduzida em um atomizador, no qual é decomposta por intenso calor em gases, produzindo átomos e íons livres capazes de absorver, emitir ou fluorescer em comprimentos de onda característicos, produzindo espectros de emissão atômica e iônica ou absorção atômica.

Em função do fenômeno ocorrido, pode-se classificar a espectrometria atômica em três tipos de técnicas diferentes, que são a espectrometria de absorção atômica (AAS), a espectrometria de emissão atômica e a espectrometria de fluorescência atômica (AFS). Cada elemento tem seu conjunto de níveis de energia característico e, portanto, o seu conjunto único de espectros de absorção e emissão.

Neste trabalho foram utilizadas as técnicas de espectrometria de absorção e emissão atômica, além da técnica de ICP-MS.

## **2.5.2 ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM FONTE DE PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP OES)**

A técnica de ICP OES se destaca por causa da grande precisão e exatidão, com capacidade de determinar simultaneamente ou sequencialmente faixas de concentrações muito diferentes de elementos.

A capacidade multielementar da técnica de ICP OES é uma das mais importantes características, juntamente com a espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP MS), podendo ser utilizada para a determinação de, aproximadamente, 70 elementos em uma ampla variedade de amostras<sup>122</sup>.

A técnica de ICP OES é baseada na medida da intensidade da radiação emitida, quando um átomo ou íon excitado pelo plasma volta a seu estado fundamental.

Atualmente, o ICP pode ter configuração para vista de observação axial ou radial; a vista axial proporciona melhor sensibilidade em relação à vista radial, em cerca de uma ordem de grandeza, embora os efeitos de matriz sejam mais acentuados<sup>123</sup>.

A diferença principal entre as duas configurações (axial e radial) consiste basicamente na composição da faixa espectral observada. Instrumentos com configuração para vista axial têm a tocha alinhada horizontalmente em relação ao sistema óptico, enquanto que nos instrumentos com vista radial a tocha tem posicionamento vertical. Os aparelhos com configuração axial proporcionam LDs 2 a 20 vezes melhores que os obtidos mediante a vista radial, apesar das interferências de matriz e recombinações na cauda do plasma (região mais fria) serem mais pronunciadas<sup>125</sup>.

Existem também alguns instrumentos que combinam os dois modos de observação do plasma (“dual view” - DV) em uma única unidade, onde a radiação é coletada por dispositivos ópticos. Nestes equipamentos a tocha é sempre posicionada horizontalmente. O princípio da técnica, configurações dos instrumentos e aplicações podem ser encontrados na referência 126.

### 2.5.3 ESPECTROMETRIA DE MASSA COM FONTE DE PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP-MS)

A técnica de ICP-MS permite a determinação de elementos mediante seus isótopos. Os íons produzidos no plasma são levados para um espectrômetro de massa, onde os diferentes íons são separados de acordo com sua razão massa/carga<sup>125</sup>. A separação dos íons de acordo com a sua razão  $m/z$  (onde  $m$  é a massa do íon e  $z$  a sua carga) ocorre através de campos eletromagnéticos oscilantes em quadrupolos ou em setores magnéticos e elétricos, dependendo da instrumentação utilizada. A técnica tem como principal vantagem a alta sensibilidade.

Na técnica de ICP-MS, para se obter resultados quantitativos deve-se eliminar, ou pelo menos minimizar os efeitos de matriz. No caso de matrizes salinas e/ou que contenham apreciável quantidade de material de natureza orgânica há sérias interferências. As interferências espectrais, na sua maioria, são causadas por íons de argônio como, por exemplo,  $^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}^+$  com a massa nominal do  $^{63}\text{Cu}^+$  e  $^{40}\text{Ar}^{24}\text{Mg}^+$  com massa nominal do  $^{64}\text{Zn}^+$ . Contudo, essas interferências causadas por íons poliatômicos são muito baixas ou inexistentes quando são utilizados espectrômetros de alta resolução. Além disso, determinados íons poliatômicos podem ser eliminados, ou as interferências deles reduzidas mediante células de reação e/ou colisão. Como exemplo cita-se a interferência do íon  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$  sobre  $^{75}\text{As}$ , que é eliminada através do emprego da célula de reação<sup>126</sup>.

Configurações de espectrômetros de ICP-MS de diversos fabricantes são descritos na referência 127.

A introdução da amostra no ICP é um fator importante a ser considerado, por afetar a precisão e exatidão dos resultados. Quando a amostra na forma líquida é introduzida no ICP, esta deve passar por um nebulizador para formar um jato gasoso (*spray*), cujas partículas são em seguida selecionadas numa câmara de nebulização: as partículas menores (com cerca de 10  $\mu\text{m}$  de diâmetro) seguem para o ICP e as maiores são descartadas. Ao entrar no ICP, as partículas selecionadas sofrem dessolvatação por aquecimento, formando um aerossol seco que é aquecido e volatilizado, resultando em átomos livres, moléculas e íons em equilíbrio<sup>128</sup>.

Existem vários tipos de nebulizadores para introduzir a amostra no ICP, no entanto os mais comuns são os pneumáticos e o ultrassônico. Na nebulização ultrassônica, as gotículas

geradas são de menor tamanho, sendo que um maior número delas chega até o ICP. Mas, o consumo da solução da amostra é bem mais alto, quando comparada à nebulização pneumática. Merecem destaque os nebulizadores pneumáticos com dessolvatação de aerossol, por melhorar a sensibilidade e consumir pouca amostra. Por causa da prévia dessolvatação parcial do aerossol, o transporte da amostra até o plasma é mais eficiente e, em alguns casos, as interferências menores ou maiores, dependendo da matriz da amostra<sup>129</sup>.

As principais diferenças entre as técnicas de ICP OES e ICP-MS são as interferências espectrais e de matriz e a sensibilidade. A ICP-MS é aproximadamente 10 vezes mais sensível e menos susceptível a interferências espectrais, mas é mais susceptível aos efeitos da matriz: As interferências espectrais são mais severas em ICP OES porque existem inúmeras linhas iônicas e atômicas de emissão, enquanto que em ICP-MS as interferências se devem principalmente aos íons poliatômicos que se formam no plasma. Por outro lado, as interferências de matriz são mais severas por causa da existência da interface nos espectrômetros de ICP-MS.

Em muitos trabalhos foram usadas as técnicas de ICP OES e ICP-MS acima discutidas, para a determinação de metais e metalóides em arroz, citando-se aqui alguns deles. Mediante ICP-MS, Fangmin *et al.*<sup>53</sup> determinaram Cd e Pb; Willians *et al.*<sup>130</sup> determinaram As e Nardi *et al.*<sup>131</sup> determinaram Se, Cu, Zn, Co, Mn, Mo, Mg, Cr, Cd, Pb, Ni e As. Mediante emprego de ICP OES, Oliveira, Baccan e Cadore<sup>132</sup> determinaram Cu, Zn, Mn, Mo e Mg; Okada *et al.*<sup>133</sup> determinaram Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn e Gonzálvez, Armenta, Guardia<sup>134</sup> determinaram As, Cd, Cr, Co, Cu, Pb, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, Tl, Ti, Zn e alguns lantanídeos.

#### **2.5.4 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA (AAS)**

Considerada como uma técnica analítica bem-sucedida, é uma das mais utilizadas na determinação de elementos, que estão presentes numa variedade de amostras, sejam estas líquidas, sólidas, em suspensão, e até mesmo gasosas, podendo ser associada a sistemas de análise em fluxo e permitir também estudos de especiação<sup>135,136</sup>, dependendo do atomizador empregado (chama, forno de grafite ou célula de quartzo).



Neste estudo foi empregada a AAS associada com HG para se determinar As total nas amostras de arroz brasileiro, bem como para a análise de especiação química de As, combinada com trapeamento criogênico. Foi também utilizada associando a geração de vapor frio (CV) para se determinar a concentração de Hg total nestas amostras.

O princípio da AAS, os diferentes tipos de instrumentos, atomizadores e aplicações são detalhados na referência 135.

#### **2.5.4.1 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETOS (HG-AAS)**

##### **2.5.4.1.1 GERAÇÃO DE HIDRETO (HG)**

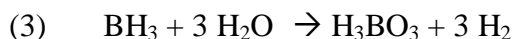
Os hidretos podem ser gerados através de reação com agentes redutores, classificados, de maneira geral, como redutores metálicos em meio ácido ou tetrahidroborato de sódio (NaBH<sub>4</sub>) em meio ácido. A redução por metal/ácido ocorre geralmente com Zn/HCl, sendo adequada para a formação da arsina (AsH<sub>3</sub>). Porém, o tempo de reação é longo (cerca de 10 min), o que diminui a frequência analítica e dificulta a automação do sistema. Além disso, as reações com metal/ácido tem muitas desvantagens, pois o Zn só serve para reduzir As, Sb e Se. O metal Zn granulado geralmente contém impurezas, elevando o sinal do branco e apenas uma parte (cerca de 8%) do analito que se transforma em hidreto é determinada<sup>135,137</sup>.

Sendo assim, a redução do analito a seus hidretos é feita geralmente com NaBH<sub>4</sub>, em duas etapas. Na primeira, o elemento é reduzido, por exemplo, de 5+ a 3+ no caso de As, 6+a 4+ no caso do Se. Na segunda etapa, ocorre a geração do hidreto correspondente. No caso do As, as reações que ocorrem são as que seguem:

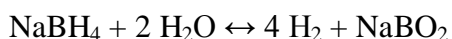


onde, R<sub>n</sub> é o número de radicais metila.

O borano (BH<sub>3</sub>) gerado por estas reações hidrolisa-se, formando como produtos o ácido bórico e o hidrogênio gasoso<sup>137</sup>.

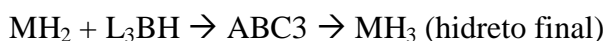
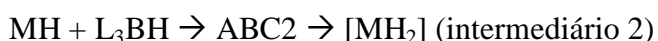
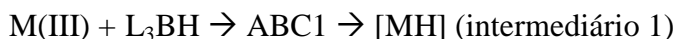


O  $\text{NaBH}_4$  decompõe-se imediatamente em meio ácido e por isso sua solução deve ser preparada em meio alcalino (com  $\text{NaOH}$ ), para que se estabilize. Desta forma, evita-se a hidrólise do  $\text{NaBH}_4$  que ocorre segundo a seguinte reação:



Existem duas hipóteses (A e B) para o mecanismo da reação em que se baseia a HG, que são mecanismos de transferência direta de H a partir do  $\text{NaBH}_4$  para o átomo do analito. A primeira hipótese (A) parte do princípio de que os hidrogênios a serem ligados ao elemento de interesse (M) são provenientes de diferentes moléculas do íon tetrahidroborato, produzindo 2 intermediários ( $[\text{MH}]$  e  $[\text{MH}_2]$ ) antes da formação do hidreto final ( $[\text{MH}_3]$ ). Segundo a hipótese B, os hidrogênios a serem ligados ao metal são provenientes da mesma molécula de tetrahidroborato, conforme ilustrado a seguir<sup>138,139</sup>.

- Hipótese A - onde M é o elemento de interesse, ABC complexos intermediários e  $\text{L}=\text{H}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{OH}^-$ , etc:



- Hipótese B - onde M é o elemento de interesse e  $\text{L}=\text{H}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{OH}^-$ , etc:



Com a utilização de  $\text{NaBH}_4$ , a formação dos hidretos é imediata e sua liberação da solução pode ocorrer entre 10 a 30 s. A concentração do agente redutor deve ser avaliada para o elemento de interesse, considerando também o sistema utilizado. Diferentes concentrações de  $\text{NaBH}_4$  são recomendadas (0,5-10,0% m/v para sistemas em batelada ou 0,1-1,0% m/v para sistemas em fluxo), estabilizadas em  $\text{KOH}$  ou  $\text{NaOH}$ , estes entre 0,1 - 2,0% m/v.

Pode-se, assim, produzir os hidretos voláteis de um grande número de elementos, além de se ter uma maior reprodutibilidade, pois o meio se apresenta mais homogêneo e a velocidade da reação maior. Geralmente, a solução de  $\text{NaBH}_4$  é adicionada à solução acidificada da amostra. Para arrastar o hidreto formado, faz-se passar uma corrente de gás inerte através da solução, em um separador gás-líquido, além do que, o hidrogênio gerado na reação auxilia no carregamento do hidreto volátil para fora da solução.

A geração do hidreto pode ser realizada de três maneiras: através do sistema em batelada, em fluxo contínuo (CF) ou por sistemas de injeção em fluxo (FI).

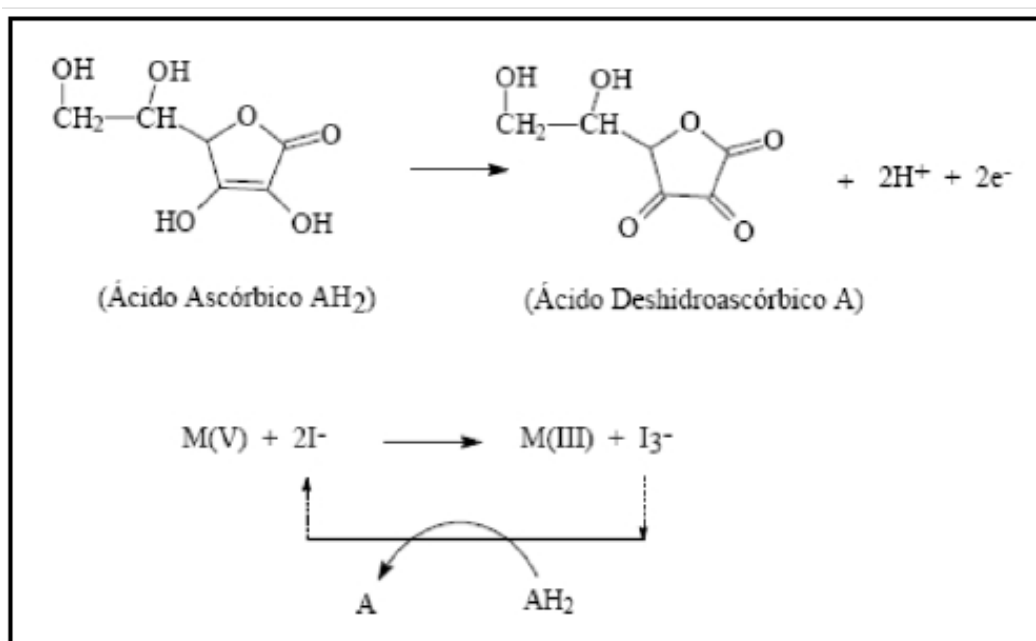
Dedina e Tsalev<sup>140</sup> dividiram em dois modos os processos de transporte do hidreto ao atomizador: a transferência direta e a coleta. No modo de transferência direta, as espécies voláteis são transportadas diretamente para o atomizador. No modo de coleta, as espécies voláteis são retidas em um coletor para posteriormente serem liberadas e transportadas até o atomizador, mediante aprisionamento ou trapeamento criogênico, que será tratado mais adiante.

Além do comportamento diferenciado dos elementos formadores de hidretos frente à reação de redução, em função de seus diferentes números de oxidação, formas organosubstituídas apresentam também um comportamento diferente na redução pelo  $\text{NaBH}_4$ . Por exemplo, a arsenobetaína (AsB), a arsenocolina (AsC) e o tetrametilarsônio (TMAs) não formam hidretos, enquanto que o MMA e DMA podem produzir sinais com intensidade diferente, no entanto, sempre menores do que a do arsenito ( $\text{AsO}_3^-$ ), isso tudo para mesma concentração das espécies.

A maior parte dos elementos capazes de formar hidretos pode existir em diferentes estados de oxidação. A formação do hidreto depende deste estado, visto que unicamente se formam de maneira quantitativa e rápida a partir do estado de oxidação III (As, Sb) ou IV (Se, Te) e, portanto, para determinar os conteúdos totais é necessário reduzi-los previamente. O Bi não precisa de uma etapa de pré-redução, pois o estado (V) é metaestável e, portanto, ele se encontra sempre como Bi (III). O  $\text{NaBH}_4$  é capaz de reduzir o As (V) e o Sb (V), mas a velocidade da reação de redução é mais lenta do que a de formação do hidreto, obtendo-se um menor sinal do que o das espécies reduzidas correspondentes. Por exemplo, a eficiência na geração da arsina ( $\text{AsH}_3$ ) a partir do As (V) está na faixa de 65 - 67%. Já o MMA forma um hidreto monometilado ( $\text{AsH}_2\text{CH}_3$ ), enquanto que o DMA forma um hidreto dimetilado

$\text{HAs}(\text{CH}_3)_2$ <sup>141</sup>. A eficiência na atomização é maior para a arsina do que para os hidretos metilados, o que explica os menores sinais do MMA e DMA.

Já os hidretos do selênio ( $\text{H}_2\text{Se}$ ) e de telúrio ( $\text{H}_2\text{Te}$ ) só se formam a partir das espécies reduzidas; o Se (VI) e Te (VI) são menos reativos frente ao  $\text{NaBH}_4$  e não se reduzem a Se (IV) e Te (IV) respectivamente. Nem mesmo o HCl concentrado é capaz de reduzi-los quantitativamente, o que torna indispensável uma etapa de pré-redução eficiente. A redução do Se é favorecida com o aumento da temperatura e com o aumento da concentração do HCl. No entanto, as condições ótimas dependem do tipo de amostra e da forma de pré-tratamento da mesma. A pré redução do Se(VI) a Se(IV), mediante HCl e  $\text{Br}^-$ , pode ser realizada em condições mais suaves, embora também seja necessário um aquecimento acima de 50 °C durante, aproximadamente, 15 min<sup>142,143</sup>. O KI é um agente redutor largamente utilizado na redução de Sb(V), As(V) e MMA, além de evitar a interferência devida ao  $\text{I}_3^-$ . O papel redutor do KI se vê reforçado pela presença do ácido ascórbico, visto que o iodeto se regenera continuamente pela oxidação do ácido citado (Figura 1).



**Figura 1.** Reações redox do sistema M(V)/KI/ácido arcórbico, sendo M = As(V) ou Sn (V)<sup>144</sup>.

As principais vantagens da geração de hidretos podem ser enumeradas:

- 1) Aumento da eficiência de transporte para o atomizador, podendo chegar a 100%;

- 2) O analito é separado da matriz, o que resulta na melhora da precisão e diminuição de interferências;
- 3) A seletividade aumenta devido à redução significativa dos interferentes;
- 4) O LD é melhorado, possibilitando a determinação de baixas concentrações do analito;
- 5) A automação dos sistemas pode ser facilmente realizada;
- 6) Dependendo do sistema utilizado, a pré-concentração do analito é viável;
- 7) Possibilita estudos de especificação química mediante associação de diferentes técnicas.

Entretanto, a HG tem algumas limitações: (i) suscetibilidade a interferências por concomitantes existentes na solução da amostra, que podem impedir a reação de geração do hidreto, ou a sua purga eficiente do vaso de reação; (ii) a cinética da geração pode ser afetada por vários fatores físicos associados à solução (densidade, viscosidade, volume, etc.), de tal modo que em alguns casos pode ser necessário um dispositivo de coleta do hidreto antes da sua introdução no atomizador; (iii) o pH e a concentração dos reagentes podem ser críticos para alguns elementos e (iv) os estados de oxidação ou a forma química do analito podem afetar as medidas<sup>135</sup>.

#### **2.5.4.1.2 PRÉ-CONCENTRAÇÃO**

Os hidretos gerados podem ser (i) diretamente transportados para o atomizador e atomizados, procedimento denominado método de transferência direta ou atomização *on-line*, ou (ii) podem ser pré-concentrados por trapeamento criogênico (CT), onde eles são primeiramente coletados e depois atomizados<sup>135</sup>. A pré-concentração pode ser feita em um dispositivo especial, usualmente um coletor criogênico ou diretamente no atomizador, neste último caso chamada de pré-concentração “in situ”. Como consequência, LDs mais baixos podem ser obtidos usando-se a HG-AAS<sup>140,145,146</sup>.

A pré-concentração no atomizador pode ser feita tanto em fornos de grafite, atomizador bem estabelecido<sup>147</sup>, assim como em célula de quartzo (QT) e em atomizadores metálicos<sup>147-150</sup>. O procedimento de pré-concentração consiste em duas etapas: (i) coleta e (ii) volatilização/ atomização. Na primeira etapa, o analito, na forma de hidreto, é carregado do

gerador até o coletor onde é retido e na segunda etapa o analito retido é volatilizado e atomizado. A eficiência do coletor será maior quanto maior for a fração de hidreto nele retida. É desejável que o hidreto gerado seja completamente retido no coletor e completamente volatilizado na etapa seguinte.

O aprisionamento criogênico consiste no uso de um tubo de vidro ou quartzo em forma de “U” imerso em nitrogênio líquido. O aprisionamento criogênico pode ser associado à técnicas de separação como, por exemplo, a cromatografia a gás (GC). Além da possibilidade de pré-concentrar as espécies, outra vantagem associada ao uso do aprisionamento criogênico consiste no fato de que espécies instáveis e/ou reativas são isoladas e, com isso, a possibilidade de alteração e/ou decomposição dessas espécies é significativamente reduzida.

Com relação à especiação de As, as diferentes espécies são retidas, geralmente, em nitrogênio líquido e são depois volatilizadas sob aquecimento. Desta forma, são separadas de acordo com seus respectivos pontos de ebulição. Com o objetivo de melhorar a sensibilidade e a resolução entre as espécies metiladas de As, alguns autores preenchem o tubo em “U” com lã de vidro e/ou materiais cromatográficos como, por exemplo, fases estacionárias utilizadas em colunas cromatográficas. Além disso, uma etapa prévia de silanização pode minimizar perdas do analito por adsorção na superfície do tubo e proporcionar uma melhor resolução. Melhores LDs, em até duas ordens de grandeza, são alcançados com o emprego da etapa de pré-concentração, quando comparada à determinação na forma direta.

Diversas técnicas analíticas já foram avaliadas para análise de especiação química de arsênio. As vantagens, campos de aplicação e diferentes métodos de preparo das amostras foram discutidos por Muñoz e Palmero<sup>151</sup>, Kumar e Riyazuddin<sup>152</sup>, Zhu e Quin<sup>153</sup> e Rabiebh *et al.*<sup>154</sup>.

A análise de amostras na forma de suspensão tem sido aplicada em associação com a HG, com o objetivo de evitar um tratamento intensivo da amostra como, por exemplo, a decomposição com ácidos concentrados. Desta maneira, a interconversão das espécies pode ser evitada. A amostragem por suspensão associada com a HG foi avaliada por Matusiewicz *et al.*<sup>145</sup> e Vieira *et al.*<sup>155</sup> para a determinação de As total em diferentes amostras de sedimento, carvão e cinzas de carvão por AAS, ou em plantas<sup>156</sup> por ICP OES. Moraes *et al.*<sup>6</sup> determinaram espécies orgânicas e inorgânicas de As em amostras de fármacos e biológicas,

utilizando HG-AAS e trapeamento criogênico. Segundo Calle *et al.*<sup>157</sup>, foi avaliada a determinação do As total e do iAs por diferentes laboratórios, sendo utilizados diferentes métodos de tratamento da amostra, bem como a utilização de diferentes técnicas (HG-AAS, LC-ICP-MS e análise por ativação neutrônica - INAA). Foi concluído que a concentração de iAs encontrada pelos diferentes laboratórios não foi dependente do método de preparo da amostra. Com isso, o principal diferencial desse trabalho foi desenvolver uma metodologia analítica eficiente e de baixo custo para a análise de especiação química de As em arroz.

### 3. OBJETIVO

O principal objetivo deste trabalho foi desenvolver metodologia analítica para a determinação e especiação química de As em arroz. Para tanto, foi utilizado trapeamento criogênico (CT) associado com HG-AAS. Além disso, determinar outros elementos-traço em arroz, a fim de caracterizar o arroz, de modo a contribuir para melhor avaliação dos riscos à saúde.

Para alcançar os objetivos, o trabalho foi planejado como segue:

- 1) Desenvolver e implementar metodologia analítica para a quantificação de As total por HG, associada tanto com AAS quanto ICP OES.
- 2) Determinar a concentração de As total por HG-AAS e HG-ICP OES, Hg por CV- ICP OES, Cd, Pb, Tl, Sn, Sb, Co, Cu, Mn, Se, Zn, Cr, Ni e Mo por ICP OES ou ICP-MS em arroz.
- 3) Avaliar procedimentos de preparo de amostra de arroz para análise de especiação química de As.
- 4) Avaliar procedimento para a análise de especiação de As, empregando pré-concentração mediante trapeamento criogênico e determinação por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG-CT-AAS).
- 5) Estudar a separação e determinação das espécies inorgânicas As (III) e As (V) em arroz, mediante a HG-AAS;

## **4. PARTE EXPERIEMETAL**

### **4.1 INSTRUMENTAÇÃO**

Para a determinação de Cd, Pb, Tl, Sn, Sb, Co, Cu, Mn, Se, Zn, Cr, Ni e Mo foram utilizados os espectrômetros de ICP OES modelo Optima™2000 DV (da PerkinElmer) e de ICP-MS modelo ELAN® DRC II (da PerkinElemer/SCIEX), respectivamente. O equipamento de ICP-MS foi disponibilizado pelo laboratório de Espectrometria Atômica do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM. Neste equipamento, o gás carregador, auxiliar e de manutenção do plasma foi argônio comercial armazenado em tanque, fornecido pela White Martins/Praxair. Nas determinações por ICP OES o gás de purga utilizado no sistema óptico foi nitrogênio com pureza de 99,996% (White Martins/Praxair). Como gás carregador, auxiliar e manutenção do plasma foi utilizado argônio com pureza 99,998%, este também proveniente da White Martins/Praxair. Os parâmetros instrumentais e acessórios utilizados para ICP OES e ICP-MS são citados na Tabela 3.

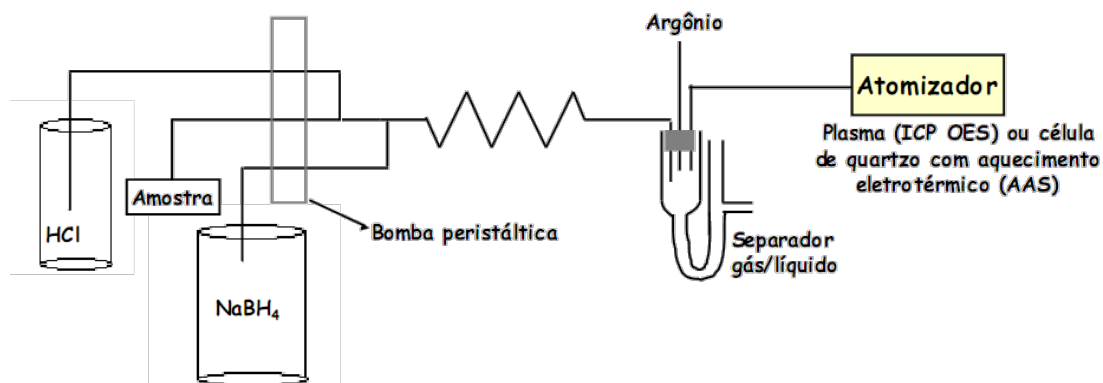


**Tabela 3.** Parâmetros instrumentais e acessórios utilizados nas determinações por ICP-OES e ICP-MS.

Parâmetros	ICP-OES	ICP-MS
Potência de radiofrequência	1500 W	1300 W
Vazão do gás principal	15 L min <sup>-1</sup>	15 L min <sup>-1</sup>
Vazão do gás auxiliar	0,2 L min <sup>-1</sup>	1,2 L min <sup>-1</sup>
Vazão do gás de nebulização	0,60 L min <sup>-1</sup>	1,03 L min <sup>-1</sup>
Nebulizador	APEX-Q	MicroMist/MCN-600
Câmara de nebulização	Ciclônica	Ciclônica
Vista de observação	Axial	-
Vazão da amostra	0,6 mL min <sup>-1</sup>	1,2 mL min <sup>-1</sup>
Comprimento de onda, nm	As - 193,696; Cr - 267,716; Ni - 231,604; Mo - 202,031; Cd -228,802 ; Pb - 220,353 Hg - 253,652	
Isótopos		<sup>53</sup> Cr, <sup>55</sup> Mn, <sup>59</sup> Co, <sup>60</sup> Ni, <sup>63</sup> Cu, <sup>68</sup> Zn, <sup>82</sup> Se, <sup>95</sup> Mo, <sup>112</sup> Cd, <sup>119</sup> Sn, <sup>123</sup> Sb, <sup>203</sup> Tl, <sup>208</sup> Pb

Utilizou-se o sistema de injeção em fluxo comercial FIAS 400 da Perkin Elmer para a determinação de As total e Hg por HG-AAS e CV-AAS, respectivamente. O sistema FIAS400 foi adaptado a um espectrômetro de absorção atômica (Analyst 2100 da PerkinElmer). O atomizador utilizado foi uma célula de quartzo, aquecida a 900 °C para As e a 90 °C para Hg. Como fonte de radiação utilizou-se uma lâmpada de catodo oco de As, operando com uma corrente de 10 mA e uma lâmpada de Hg operando a 6 mA. A absorvância do As foi medida em 193,7 nm, sendo a abertura da fenda do monocromador 0,7 nm e o tempo de integração do sinal 40 s. A absorvância do Hg foi medida em 253,7 nm, sendo a abertura da fenda do monocromador 0,7 nm e o tempo de integração do sinal 40 s. Quando foi utilizado ICP OES para a detecção de As total e Hg, o sistema mostrado na Figura 2 foi

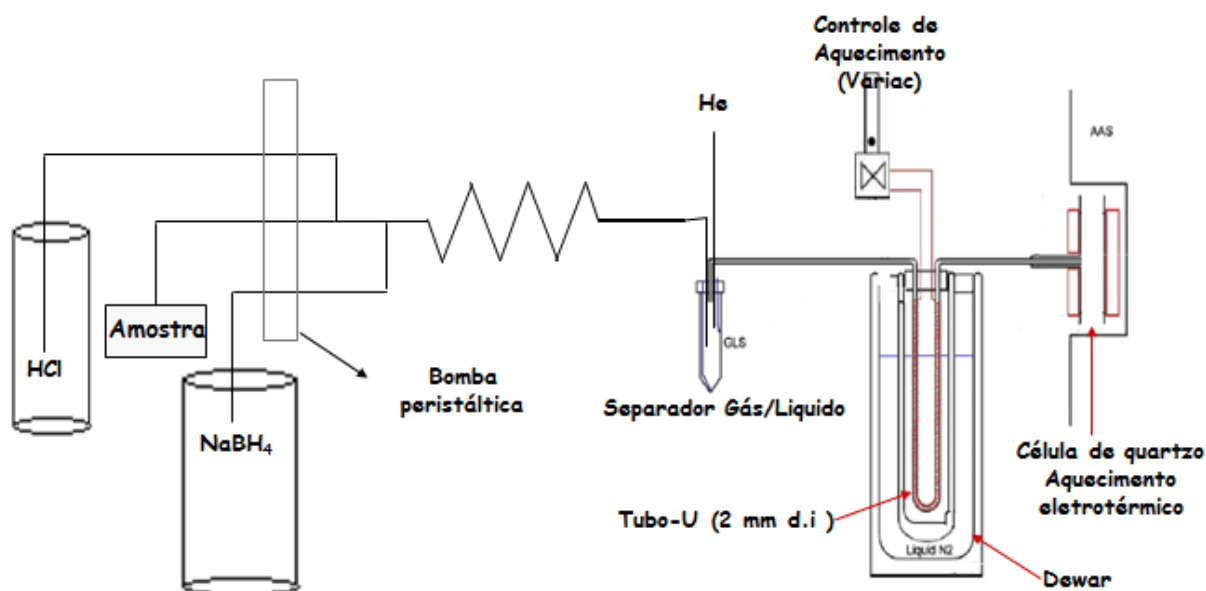
utilizado. Os parâmetros do plasma e comprimento de onda citados na Tabela 3 foram utilizados.



**Figura 2.** Esquema de sistema de geração química de vapor (CVG). Adaptado da referência 158.

O sistema mostrado na Figura 2 foi também utilizado neste trabalho para a especiação de As inorgânico, onde a amostra primeiramente entra em contato com o agente carreador (HCl) e depois a nova solução assim obtida entra em contato com o NaBH<sub>4</sub> (agente redutor). A mistura é levada para um separador gás/líquido onde o argônio (gás inerte) auxilia no transporte das espécies voláteis até o atomizador ou fonte de íons.

Para a análise de especiação química de As o instrumento utilizado foi o Analyst 200 da Perkin Elmer, equipado com o sistema para injeção em fluxo, FIAS 100. Uma bomba peristáltica (Gilson) com 4 canais foi conectada ao FIAS 100, equipado com uma lâmpada de descarga sem eletrodos (EDL) como fonte de radiação, com corrente de 350 mA. O comprimento de onda e a largura da fenda selecionados foram 193,7 nm e 2,7 nm respectivamente. A correção do sinal de fundo foi realizada mediante lâmpada de deutério. Toda a operação do instrumento e obtenção dos sinais foram feitos empregando-se o *software* PerkinElmer WinLab 32, versão 6.5.0.0266. A obtenção dos sinais analíticos foi feita no modo de absorvância integrada e, posteriormente, para a integração dos sinais foi utilizado o *software* Excel (*Microsoft Office*). O sistema utilizado para análise de especiação química de As é mostrado na Figura 3.



**Figura 3.** Sistema utilizado para a análise de especiação de As por HG-CT-AAS.

O tempo de permanência do tubo em “U” em um “dewar” com nitrogênio líquido, bem como o de aquecimento do mesmo para a análise de especiação de As por HG-CT-AAS foram controlados manualmente. Na etapa de volatilização, o “dewar” era removido e em seguida o tubo era aquecido. O fornecimento de energia para o aquecimento da resistência elétrica, posicionada ao redor do tubo, durante a etapa de volatilização das espécies, foi feito mediante uma fonte de aquecimento (Variac, modelo EA-PS 3065-10B). Para o controle da vazão do gás de arraste (He) foi utilizado um fluxômetro de massa (Model-32907-61, Cole-Parmer Instrument Company).

#### 4.2 MATERIAIS, REAGENTES E SOLUÇÕES DE CALIBRAÇÃO

Foram utilizados reagentes de grau analítico e água deionizada e purificada (com resistividade de 18,2 MΩ cm) em sistema Milli-Q<sup>®</sup> da Millipore. Esta água foi utilizada para a preparação de todas as amostras e soluções. Os ácidos clorídrico (HCl) 37% (m/m), nítrico (HNO<sub>3</sub>) 65% (m/m) e o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 30% (todos da marca Merck) foram utilizados.

As soluções de calibração para a determinação de Cr, Ni, Mo, Pb e Cd por ICP OES, As por HG-AAS e HG-ICP OES e Hg por CV-ICP OES foram preparadas a partir de diluições adequadas de soluções estoque (Merck) contendo  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  destes elementos. As soluções de calibração foram preparadas em  $\text{HNO}_3$  6,25% (v/v) para as determinações por HG-ICP OES e CV-ICP OES e em  $\text{HNO}_3$  12,5% (v/v) para as determinações por HG-AAS, sendo a concentração de ácido igual na suspensão da amostra de arroz e soluções de calibração.

Para a determinação de Cr, Mg, Co, Cu, Zn, Se, Cd, Sn, Sb, Tl e Pb por ICP-MS as soluções de calibração foram preparadas a partir de diluições de uma solução estoque contendo  $10 \text{ mg L}^{-1}$  dos elementos (PLASMA Cal SCP33MS, SCP Science). As soluções de calibração foram preparadas em  $\text{HNO}_3$  5% (v/v).

As concentrações das soluções de calibração, em  $\mu\text{g L}^{-1}$ , são as que seguem: 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0 para Hg, 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10 e 20 para os elementos determinados por ICP OES e 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10 para os elementos determinados por ICP-MS.

Para a análise de especiação química de As, as soluções de calibração foram preparadas a partir de diluições adequadas de soluções estoque contendo  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  das espécies As(III), As(V) e MMA e  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de DMA, as quais foram fornecidas pelo Prof. Valderi L. Dressler da UFSM. Essas soluções de calibração foram preparadas em  $\text{HNO}_3$  2,0% (v/v) e em HCl 2,5% (v/v) para as determinações mediante HG-AAS e HG-CT-AAS, respectivamente, sendo essas concentrações de ácido iguais para as soluções de calibração e suspensão da amostra.

Para a determinação de As mediante HG-CT-AAS, o tubo em “U” foi preenchido com a fase estacionária de suporte, à base de diatomita (sílica), recoberta com grupos siloxanos (-Si-O-Si-), com partículas de 45 a 60 mesh (Chromosorb WAW-DCMS 45/60 - 15%OV-3, Supelco). Para melhorar a resolução e separação da espécie de arsênio foi utilizado o reagente Rejuv-8 (Sigma) como agente silanizador.

Soluções de  $\text{NaBH}_4$  (Vetec) foram preparadas em NaOH 0,01 % (Merck), imediatamente antes do uso, ou mantidas a  $4^\circ\text{C}$  por no máximo uma semana.

Com o objetivo de reduzir a formação de espuma excessiva durante a mistura do  $\text{NaBH}_4$  com a suspensão da amostra de arroz, foram adicionadas à suspensão gotas de agente anti-espumante (Antifoam-30 Emulsion, Merck).

As amostras foram decompostas em frascos de politetrafluoretileno (PTFE) para volume de 50 mL, fechados com tampa rosca e com aquecimento num sistema constituído por bloco metálico e controlador de temperatura (modelo TE-007D, TECNAL).

Para homogeneizar as suspensões das amostras de arroz foi utilizado um agitador magnético (Fanem), o qual foi mantido ligado durante amostragem da suspensão.

O aquecimento para a extração seletiva das espécies de As em meio ácido foi em chapa de aquecimento (Ika). As suspensões foram preparadas em frascos de polipropileno com capacidade para 15 mL, que foram imersos em um copo bequer em banho-maria por 30 minutos a  $90 \pm 5$  °C, com controle manual da temperatura, por imersão de um termômetro de mercúrio na suspensão.

Todas as pesagens foram feitas em balança analítica digital (Gibertini) com resolução de 0,0001 g e capacidade máxima para 60 g.

As amostras de arroz foram moídas em moinho criogênico (SPEX).

#### **4.2.1 LIMPEZA DO MATERIAL**

Frascos de polipropileno foram utilizados para o armazenamento das amostras, os quais foram previamente descontaminados com solução de HNO<sub>3</sub> 10% (v/v), por contato com a solução por no, mínimo, 48 horas, sendo em seguida lavados com água deionizada ultrapura. Os copos béquer e os balões volumétricos utilizados foram descontaminados da mesma forma, mas com HNO<sub>3</sub> 50% (v/v). A lavagem e descontaminação dos frascos de PTFE utilizados para a decomposição das amostras foram realizadas como segue: cerca de 4 mL de HNO<sub>3</sub> foram adicionados a cada frasco e o conjunto levado a aquecimento por 5 horas a 180°C. Depois de esfriar à temperatura ambiente, os frascos foram enxaguados com água deionizada ultrapura.

A limpeza da célula de quartzo, utilizada para HG-AAS, foi feita periodicamente por imersão total em mistura de HNO<sub>3</sub> concentrado e HF concentrado na proporção de 7:3, por 10 min. Em seguida, a célula foi enxaguada com água ultrapura e deixada secar à temperatura ambiente.

### 4.3 AMOSTRAS

As amostras analisadas são citadas na Tabela 4. Elas foram adquiridas no comércio local (em supermercados e feiras). Estas amostras compreendem diferentes tipos e diferentes variedades de arroz, todos produzidos de forma irrigada no Rio Grande do Sul.

**Tabela 4.** Relação de amostras analisadas

<b>Amostra</b>	<b>Variedade de arroz</b>	<b>Tipo de processamento do arroz</b>
A1	Agulhinha	Polido
A2	Agulhinha	Orgânico Integral
A3	Agulhinha	Orgânico Polido
B1	Branco	Parboilizado tipo 1
B2	Branco	Polido tipo 1
B3	Branco	Polido tipo 1
B4	Branco	Polido tipo 1
B5	Integral	Integral tipo 1
C1	Cateto	Polido
C2	Cateto	Integral
C3	Cateto	Orgânico Polido
C4	Cateto	Orgânico Integral
D1	Cateto	Biodinâmico Orgânico Integral

#### 4.3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras de arroz foram decompostas seguindo-se a metodologia descrita por Calle *et al.*<sup>157</sup>. Elas foram cominuídas em moinho criogênico e peneiradas em peneira com malha de 0,08 mm. Cerca de 0,125 g de amostra moída foram pesados em frasco de PTFE, ao qual foram adicionados 1,25 mL de HNO<sub>3</sub> e 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Os frascos foram deixados em repouso por cerca de 16 horas e depois levados ao bloco de aquecimento onde permaneceram por 5 horas a 160 °C. Após este período, os frascos foram deixados esfriar à temperatura ambiente,

a solução da amostra transferida para frasco graduado e o volume da solução completado a 10 mL, com água. Esta solução foi ainda diluída 2 ou 5 vezes para a determinação dos elementos de interesse, exceto para a determinação de As por HG-AAS. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

Para a determinação de As nas amostras de arroz sob a forma de suspensão, foram testados diferentes solventes extratores e concentrações desses solventes; água, HNO<sub>3</sub>, HCl e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Este estudo foi realizado visando-se a análise de especiação química do As, pois como foi escrito anteriormente, o método de extração deve ser aquele no qual as espécies sofram a mínima ou nenhuma interconvenção<sup>23,116</sup>. O método escolhido foi o proposto por Huang *et al.*<sup>159</sup>, com algumas modificações. Neste caso, 0,25 g da amostra cominuída e peneirada foram pesados e transferidos para frasco de polipropileno, ao qual foram adicionados 5 mL de HCl 2,5% (v/v). A mistura foi aquecida em banho-maria a 90 ± 5°C por 30 min sob agitação magnética. O As presente na suspensão foi, então, determinados por HG-AAS, HG-ICP OES e HG-CT-AAS, esta última empregada apenas para uma amostra de arroz integral, aleatoriamente escolhida para a análise de especiação química de As. Para a separação e determinação das espécies inorgânicas de As (As (III) e As (V)) no arroz, o mesmo procedimento de preparo da amostra foi seguido.

Para a determinação de Hg, 0,5 g da amostra foram pesados em frascos de vidro, aos quais foram adicionados 2,5 ml de HNO<sub>3</sub> 20% (v/v), a mistura deixada em repouso por 24 horas e a seguir centrifugada a 2000 rpm por 20 minutos, ou, então, até verificar-se que o material particulado tinha precipitado. Somente o sobrenadante foi utilizado para a determinação de Hg, uma vez que o Hg é extraído para a solução. O método utilizado foi desenvolvido por Collasiol *et al.*<sup>160</sup> para solo e sedimento, com algumas modificações, devido à diferença da matriz analisada.

#### **4.4 AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO**

A exatidão dos resultados foi avaliada mediante teste de recuperação dos elementos. A adição do analito foi realizada antes da decomposição ou aquecimento da suspensão. No caso do Hg, a adição foi realizada de modo a se obter 1µg L<sup>-1</sup> de Hg na suspensão; para As a adição foi realizada de modo a se obter 3µg L<sup>-1</sup> na solução da amostra digerida ou em

suspensão, tanto para determinação de arsênio total quanto para especificação do elemento. Com relação aos demais elementos, a adição foi realizada de modo a se obter 2,5 µg L<sup>-1</sup> dos elementos na solução da amostra digerida.

Os limites de detecção (LDs) e de quantificação (LQs) dos elementos investigados foram obtidos através das equações abaixo.

$$LD = 3s + m$$

$$LQ = 10s + m$$

sendo, s o desvio padrão e m a média de 10 medidas consecutivas do branco.

O percentual de recuperação foi calculado conforme a seguinte fórmula:

$$Re\ c\% = \frac{[valor\ obtido - valor\ real]}{valor\ real} \times 100$$

Sendo o valor real aquele esperado, em µg L<sup>-1</sup>, segundo a adição feita.

Para os valores de concentração em ng g<sup>-1</sup>, estes foram calculados da seguinte forma:

$$C(\text{ngg}^{-1}) = \frac{[C_{\text{AAS}} \times V \times D \times 1000]}{m}$$

Onde,

C<sub>AAS</sub> é a concentração obtida em µg L<sup>-1</sup>.

V é o volume inicial de solução da amostra.

D é o fator de diluição (fd); quando não há diluição o fd é 1.

1000 é o fator de transformação para ng.

m é a massa de amostra pesada.

#### 4.5 SISTEMA HG-CT-AAS

O sistema HG-CT-AAS foi montado seguindo-se o mesmo procedimento descrito por Moraes *et al.*<sup>6</sup>.

Na montagem do sistema FIA foram utilizados tubos de politetrafluoretileno - PTFE (VICI) com 1,0 mm d.i., para a propulsão dos reagentes e amostra. Para o transporte dos hidretos até o tubo em “U”, um tubo de PTFE com 1,3 mm d.i. foi utilizado.

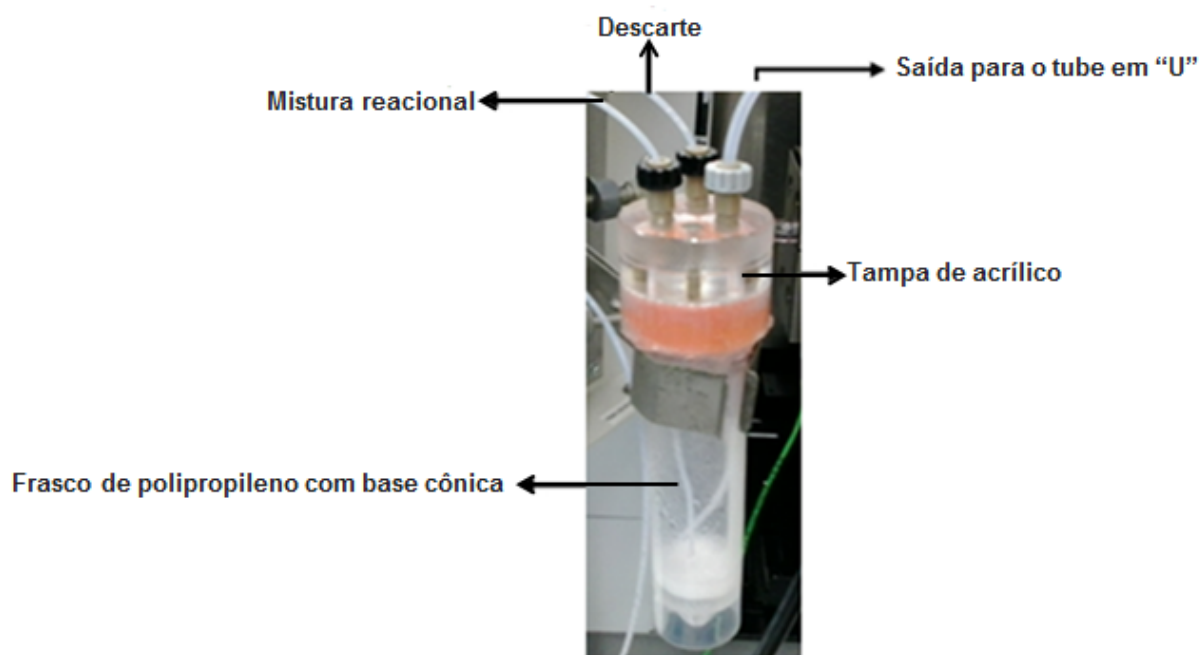


Nos pontos de confluência dos reagentes foram empregadas conexões poliméricas feitas de poliétercetona (PEEK), em forma de “T” e flanges (RheFlex F6 ou F8, Rheodyne). Os reagentes, solução e suspensão da amostra foram propulsionados à vazão de  $2 \text{ mL min}^{-1}$ . Os reagentes utilizados foram HCl 20%(v/v) como solução carreadora e  $\text{NaBH}_4$  0,5%(m/v) como agente redutor. Para a propulsão, tubos de Tygon<sup>®</sup> de diversos diâmetros foram utilizados.

Para a injeção da amostra, uma alça de amostragem com capacidade para 0,8 mL (300 mm de comprimento) foi empregada. O preenchimento da alça de amostragem e injeção foram feitos conforme mostrado na tabela 5 (ítem 4.7). Adicionalmente, uma alça de reação com capacidade para 1,7 mL (920 mm de comprimento) foi utilizada para promover a mistura reacional e geração das espécies voláteis.

#### 4.6 SEPARADOR GÁS-LÍQUIDO (GLS)

O frasco de polipropileno de fundo cônico (Sarstedt) com capacidade para 50 mL modificado e utilizado no sistema como separador gás-líquido encontra-se na Figura 4.

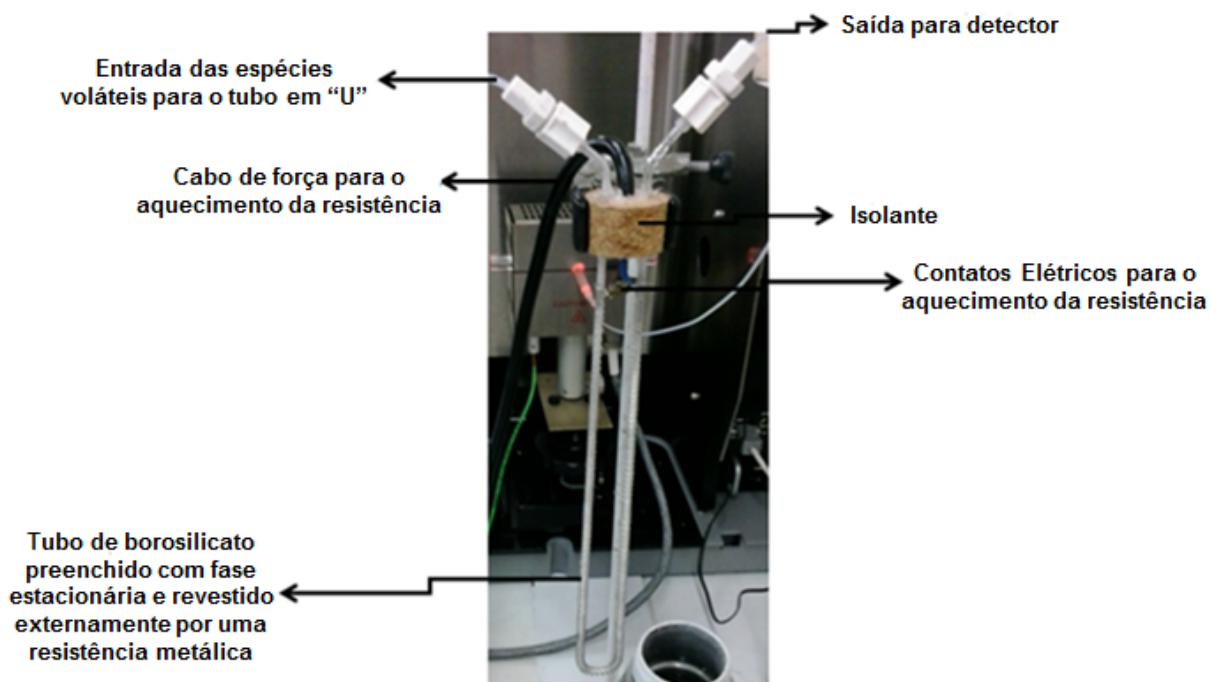


**Figura 4.** Frasco de polietileno modificado, utilizado como separador gás-líquido na análise de especiação química de As por HG-CT-AAS.

#### 4.6.1 TUBO EM “U” PARA A ETAPA DE APRISIONAMENTO CRIOGÊNICO

Para a análise de especiação química de As por HG-CT-AAS foi utilizado tubo feito de borossilicato ou quartzo, em forma de “U”, conforme mostrado na Figura 5. O tubo possuía as seguintes dimensões: 305 mm de comprimento, 4,5 mm d.e. 2,5 mm d.i. e largura de 34 mm (vidro) ou 24 mm (quartzo). O tubo foi descontaminado, secado e preenchido com a fase estacionária. Após o preenchimento, a fase estacionária foi tratada com um agente silanizador 1,1,1 - trimetilsilano (Rejuv® 8, Sigma). Quatro alíquotas de 25 µL do reagente foram sucessivamente adicionadas à fase estacionária, seguidas de purga por 3 a 4 h com gás inerte, 8 h antes de iniciar a análise. A aplicação de uma etapa de silanização previamente à análise foi utilizada para reduzir a interação da fase estacionária com os analitos e, assim, minimizar a possibilidade de perdas por retenção.

No tubo em “U” as espécies são separadas parcialmente de acordo com a interação com a fase estacionária. Além disso, como o tubo fica imerso em nitrogênio líquido (temperatura de ebulição de -186 °C) e as espécies possuem diferentes pontos de ebulição – por exemplo, os pontos de ebulição da arsina ( $\text{AsH}_3$ ), metilarsina ( $\text{CH}_3\text{AsH}_2$ ) e a dimetilarsina ( $(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$ ) são -55, 2 e 35°C, respectivamente – a separação é promovida. Portanto, quando se aplica a etapa de aquecimento, as espécies são volatilizadas gradativamente à medida que a temperatura no interior do tubo aumenta. Sendo assim, a separação das espécies ocorre de acordo com o ponto de ebulição e propriedades cromatográficas.



**Figura 5.** Tubo em "U" utilizado para trapeamento criogênico na análise de especiação química de As por HG-CT-AAS.

Para mais informações sobre a montagem do sistema HG-CT-AAS (montagem do separador gás-líquido e o preparo do tubo em "U") ver ítem 3.5 da referência 6.

#### 4.7 APRISIONAMENTO CRIOGÊNICO DE ESPÉCIES DE As E DETERMINAÇÃO POR HG-AAS (HG-CT-AAS)

O sistema empregado para a análise de especiação química de As foi proposto por Matousek *et al.*<sup>5</sup> e posteriormente utilizado por Moraes *et al.*<sup>6</sup>. O procedimento é baseado na geração seletiva de hidretos voláteis de compostos trivalentes de As, mediante controle do pH e concentração dos reagentes. Após a geração dos compostos voláteis, eles são trapeados no tubo com formato em "U" (preenchido com uma fase estacionária) imerso em nitrogênio líquido. Na etapa seguinte, o tubo é aquecido e as espécies são volatilizadas e determinadas por AAS. O esquema do sistema utilizado é mostrado na Figura 6.

O sistema semi-automatizado empregado para a análise de especiação química de As foi em parte controlado pela unidade FIAS 100, acessório do espectrômetro de absorção

atômica. Foram controlados o tempo e a velocidade da bomba peristáltica, necessários para que a amostra e os reagentes entrassem em contato e chegassem até o separador gás líquido. O tempo de imersão e de emersão do tubo em “U” no “Dewar”, bem como o de aquecimento do tubo e também o funcionamento da bomba que fazia o envio da mistura reacional para o descarte foram controlados manualmente. As etapas do programa FIAS 100 e as etapas manuais são citadas na Tabela 5. Foram 7 etapas, necessárias para obtenção dos sinais das espécies de As, utilizando o sistema mostrado na Figura 6 e a unidade FIAS 100.

**Tabela 5.** Etapas do programa semi-automatizado para a análise de especiação química de As por HG-CT-AAS. O tempo total da análise é 88s.

Etapa	Tempo decorrido (s)	Bomba 1* (rpm)	Bomba 2** (rpm)	Leitura	Aquecimento (potências 1, 2 e 3)	Tubo “U” em nitrogênio líquido
1	88	80	-	-	-	Imerso
2	76	80	-	-	-	retirado
3	68	80	-	-	3	-
4	60	-	-	-	2	-
5	58	-	-	sim	2	-
6	57	-	-	sim	-	-
7	0	-	80	sim	-	-

\* Utilizada para adição dos reagentes e amostra.

\*\* Utilizada para envio da mistura reacional para o descarte.

A Figura 6 ilustra a montagem e os componentes do sistema utilizado para a determinação das espécies de As por HG-CT-AAS.



**Figura 6.** Sistema e acessórios utilizados para análise de especiação química de As por HG-CT-AAS; 1: Variac, equipamento utilizado para controlar o aquecimento do tubo em “U”; 2: bomba peristáltica auxiliar utilizada para envio da mistura reacional para o descarte; 3: FIAS 100, utilizado como controlador do tempo e velocidade da bomba peristáltica, para propulsão dos reagentes e amostra para o separador gás líquido; 4: frascos dos reagentes HCl e NaBH<sub>4</sub>; 5: separador gás líquido; 6: tubo em “U”; 7: “Dewar” utilizado para imersão do tubo em “U” em nitrogênio líquido e 8: fluxômetro, utilizado para manter a vazão do gás de arraste (He) em 75 mL min<sup>-1</sup>.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão dos mesmos estão divididos de acordo com a ordem previamente estabelecida na revisão bibliográfica. Inicialmente, serão apresentados os resultados obtidos para a determinação da concentração total de Cd, Pb, Tl, Sn, Sb, Co, Cu, Mn, Se e Zn Cr, Ni, Mo e Hg nas 13 amostras de arroz citadas na Tabela 4, seguidos dos resultados da determinação de As total e Hg total nas mesmas amostras. Será discutido

também se as concentrações encontradas dos elementos determinados poderiam causar intoxicação e se as concentrações de elementos controlados (As, Cd e Pb) no arroz pela legislação brasileira estão abaixo do valor máximo permitido. Na sequência, será apresentada e discutida a análise de especiação química de As em arroz integral por HG-CT-AAS, com amostragem direta de suspensão. Como parte final será discutida a metodologia de especiação do iAs na mesma amostra.

## 5.1 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Os LDs e LQs do método são mostrados na Tabela 6.

**Tabela 6.** Valores de LD e LQ para o teor total dos elementos investigados neste trabalho.

		Elemento	Técnica	LD	LQ
<b>As</b>	HG-AAS <sup>a</sup>	0,5	36,6	1,7	138
	HG-ICP OES <sup>a</sup>	0,1	19,8	0,4	65,9
	HG-AAS <sup>b</sup>	0,5	20	1,7	68
<b>Hg</b>	CV-AAS <sup>b</sup>	2,3	11,2	6,6	33
	HG-ICP OES <sup>b</sup>	0,5	2,5	1,6	8,2
<b>Cd</b>	ICP OES <sup>a</sup>	0,06	9,8	0,1	19,8
	ICP-MS <sup>a</sup>	0,04	5,6	0,1	16,8
<b>Pb</b>	ICP OES <sup>a</sup>	1,7	278	5,4	862
	ICP-MS <sup>a</sup>	0,2	29,9	0,3	41,1
<b>Ni</b>	ICP OES <sup>a</sup>	0,2	37,5	0,7	108
<b>Cr</b>	ICP OES <sup>a</sup>	0,07	10,9	0,2	35,2
<b>Mo</b>	ICP OES <sup>a</sup>	0,3	53,0	1,0	160
<b>Mn</b>	ICP-MS <sup>a</sup>	0,3	44,6	0,3	44,6
<b>Co</b>	ICP-MS <sup>a</sup>	0,01	1,4	0,01	1,4
<b>Cu</b>	ICP-MS <sup>a</sup>	0,3	42,2	0,3	53,4
<b>Zn</b>	ICP-MS <sup>a</sup>	4,3	683	5,5	873
<b>Se</b>	ICP-MS <sup>a</sup>	0,2	27,7	0,4	61,3
<b>Sn</b>	ICP-MS <sup>a</sup>	3,0	485	3,3	530
<b>Sb</b>	ICP-MS <sup>a</sup>	1,1	173	1,2	184
<b>Tl</b>	ICP-MS <sup>a</sup>	0,001	0,2	0,001	0,2

<sup>a</sup>: para a amostra digerida; massa de amostra; 0,125 g em 10 mL (sem posterior diluição para HG-AAS, 2 vezes diluída para HG-ICP OES e 5 vezes para ICP-MS); <sup>b</sup>: para a amostra analisada na forma de suspensão; massa de amostra: 0,25g para As e 0,5g para Hg, ambas em em 10mL de suspensão.

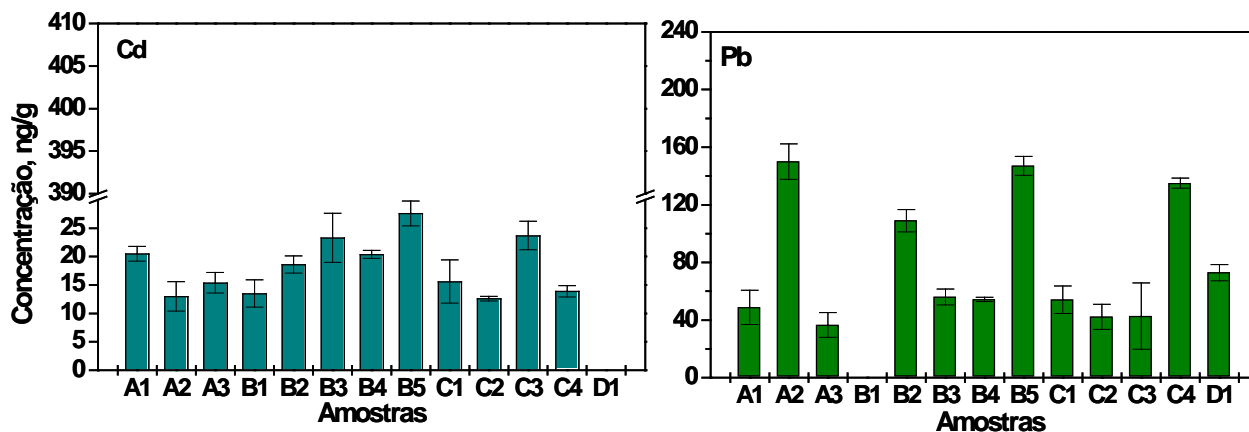
## 5.2 DETERMINAÇÕES POR ICP OES E ICP-MS

Nessa primeira parte serão mostrados os resultados da determinação de Cd, Pb, Tl, Sn, Sb, Co, Cu, Mn, Se, Zn, Cr, Ni e Mo nas amostras de arroz. Os elementos Ni, Cr, Mo, Zn, Cu e Mn foram determinados por ICP OES, enquanto que Tl, Sn, Sb, Co e Mo foram determinados por ICP-MS. Todas as amostras foram preparadas de acordo como procedimento descrito no ítem 4.3.1. A técnica de ICP OES ou ICP-MS foi utilizada de acordo com a sensibilidade e concentração do elemento nas amostras de arroz.

### 5.2.1 CÁDMIO E CHUMBO

Estes elementos não puderam ser determinados por ICP OES, pois as concentrações deles nas amostras eram menores que os respectivos LDs: 9,8 ng g<sup>-1</sup> para Cd e 278 ng g<sup>-1</sup> para Pb. Desta forma, o Cd e Pb foram quantificados por ICP-MS, cujos LDs foram 5,6 ng g<sup>-1</sup> para Cd e 29,9 ng g<sup>-1</sup> para Pb, conforme citado na Tabela 6.

Conforme a Figura 7, em todas as amostras as concentrações médias de Pb e Cd estavam abaixo das máximas permitidas pela legislação brasileira. Este estabelece que as concentrações máximas de Cd e Pb no arroz devem ser 1000 ng g<sup>-1</sup> e 800 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente. Com respeito ao Cd, não se observam grandes diferenças para a concentração do elemento nas amostras. Por outro lado, verifica-se que nas amostras de arroz integral (A2, B5 e C4) a concentração de Pb é maior. O Cd e o Pb não foram detectados nas amostras de arroz biodinâmico orgânico integral (D1) e parboilizado (B1), respectivamente.



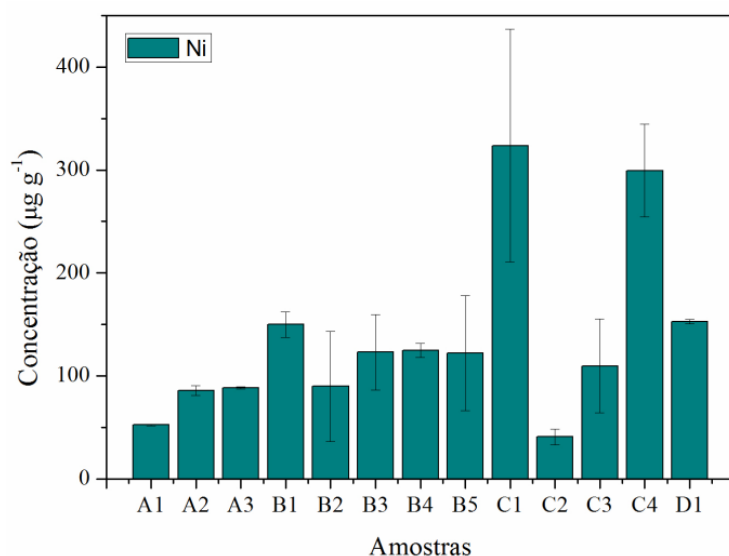
**Figura 7.** Concentrações de Cd e Pb encontradas nas amostras de arroz analisadas; barras não mostradas referem-se a concentrações abaixo dos respectivos LDs (Tabela 6). As barras de erro indicam o desvio padrão de 3 determinações. As concentrações máximas de Cd e Pb permitidas pela legislação brasileira<sup>47,48</sup> são de 1000 e 800 ng g<sup>-1</sup>

### 5.2.2 NÍQUEL, TÁLIO, ESTANHO E ANTIMÔNIO

Na maioria das amostras analisadas, a concentração de Tl estava abaixo do LD (0,2 ng g<sup>-1</sup>). A concentração máxima de Tl encontrada foi 0,6 ng g<sup>-1</sup>. As concentrações de Ni (Fig. 8) e Tl encontradas nas amostras de arroz analisadas indicaram que não existe a possibilidade de intoxicação por estes elementos, conforme previsto pela WHO. Para o Ni, não se observou prevalência de maiores ou menores concentrações, segundo o tipo e cultivar de arroz. De acordo com a Figura 8, a concentração de Ni é mais altas amostras C1 e C4, sendo C1 de arroz branco polido e C4 de arroz integral orgânico.

O Sb e Sn não foram detectados nas amostras. De acordo com a Tabela 6, o LD do Sn é 485 ng g<sup>-1</sup>, um valor relativamente alto. Isso se deve à contaminação do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) utilizado para a preparação das amostras. Esse reagente é geralmente contaminado com Sn e neste trabalho a contaminação foi observada pelo elevado sinal do branco.

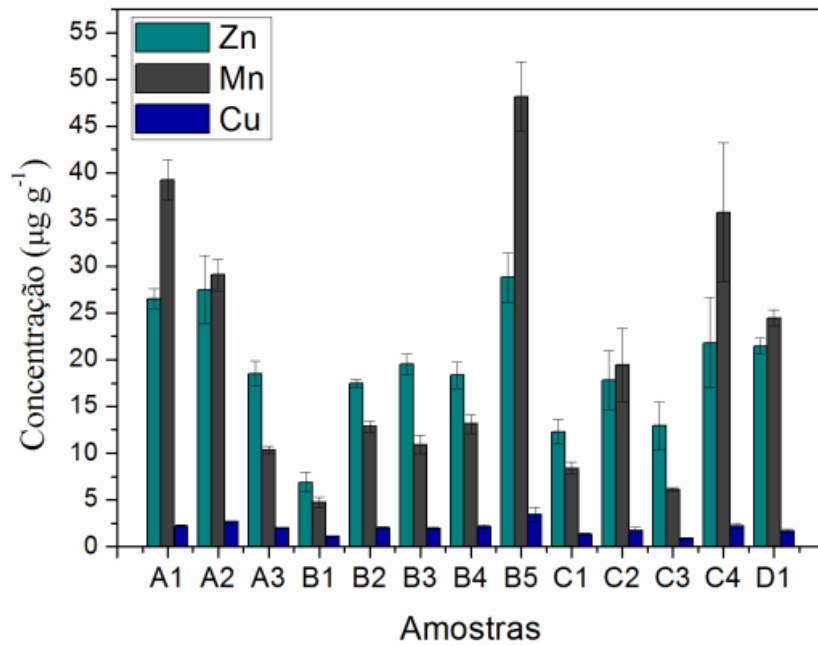




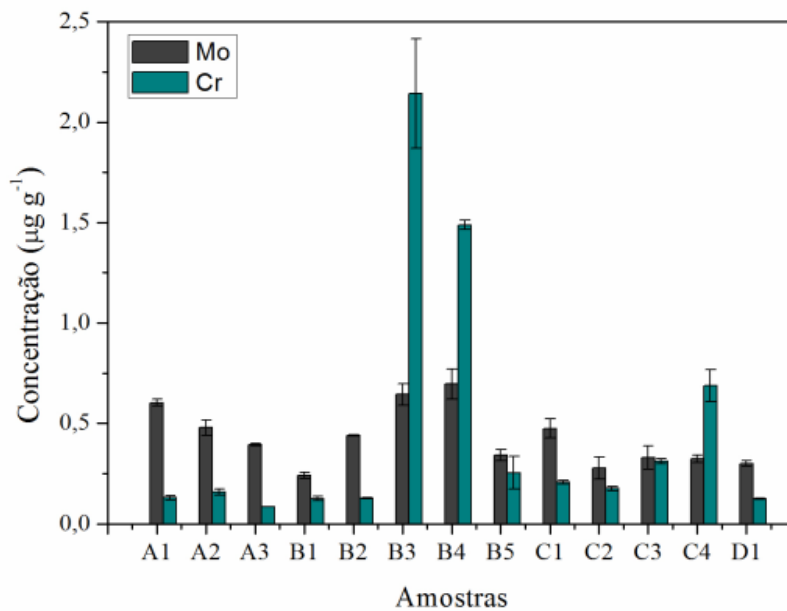
**Figura 8.** Concentração de Ni encontrada nas amostras de arroz. As barras de erro indicam o desvio padrão de 3 determinações.

### 5.2.3 MICRONUTRIENTES

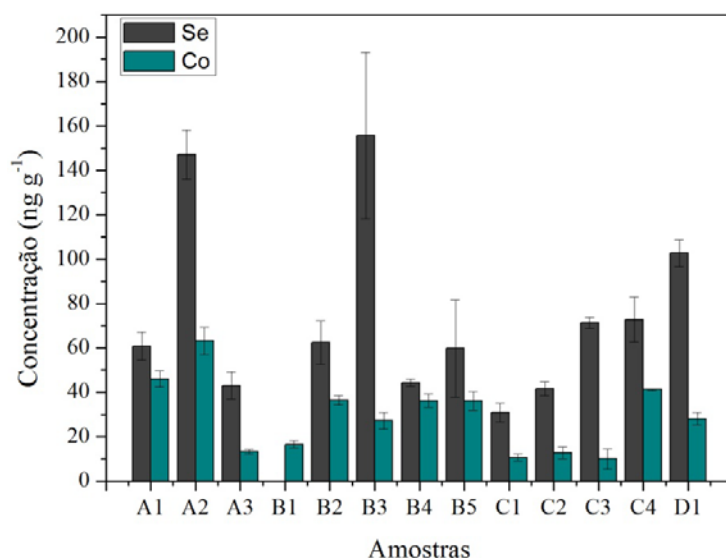
As concentrações de Zn, Mn, Cu, Mo, Cr, Se e Co encontradas nas amostras de arroz são mostradas nas Figuras 9, 10 e 11. Pode ser observado que as maiores concentrações de Zn, Mn e Cu foram encontradas nas amostras A2, B5, C2, C4 e D1, que são todas de arroz integral. A exceção é o arroz da variedade agulhinha, no qual o teor de Mn foi maior na amostra de arroz polido (A1) do que na integral (A2). Resultados que indicam um maior teor destes elementos em arroz integral brasileiro também foram encontrados por Oliveira, Baccan e Cadore<sup>161</sup>. No entanto, as concentrações de Zn, Mn e Cu encontradas por eles foram um pouco mais baixas.



**Figura 9.** Concentrações de Zn, Cu e Mn encontradas nas amostras de arroz analisadas. As barras de erro indicam o desvio padrão de 3 determinações.



**Figura 10.** Concentrações de Mo e Cr encontradas nas amostras de arroz analisadas. As barras de erro indicam o desvio padrão de 3 determinações.



**Figura 11.** Concentrações de Se e Co encontradas nas amostras de arroz analisada. As barras de erro indicam o desvio padrão de 3 determinações.

Quanto aos teores Mo, Cr, Se e Co encontrados, não é possível fazer uma associação destes com o processamento do arroz e/ou sua variedade e forma de cultivo. Porém, é interessante salientar que os menores teores de Zn, Mn, Mo, Se e Cu foram encontrados no arroz branco parboilizado (B1).

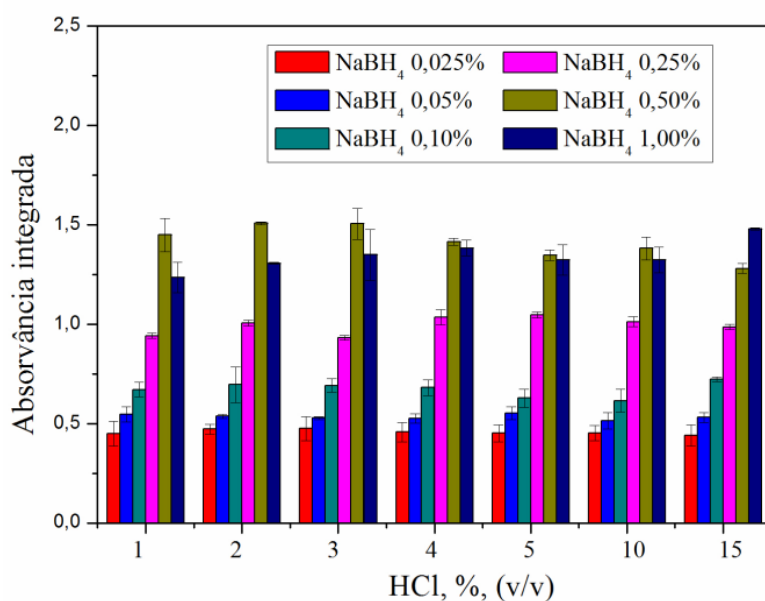
### 5.3 DETERMINAÇÃO DE Hg POR CV-AAS E CV-ICP OES

A determinação de Hg nas amostras de arroz foi feita por duas técnicas (CV-AAS) e (CV-ICP OES), sendo as amostras preparadas conforme descrito no item 4.3.1.

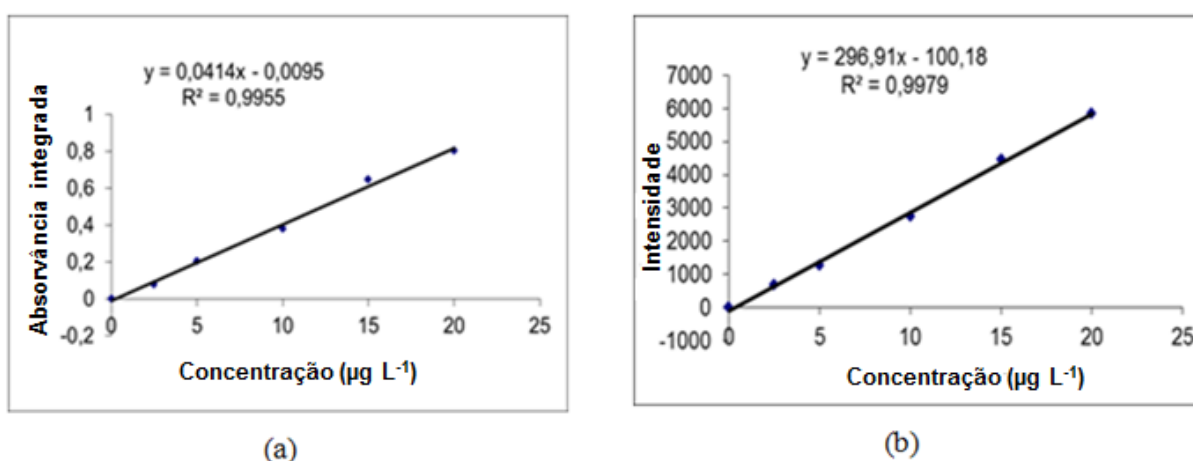
Da mesma forma que o Sb e Sn, o Hg não foi detectado em nenhuma das amostras de arroz analisadas. Conforme a Tabela 6, os LDs foram 11,2 ng g<sup>-1</sup> para CV- AAS e 2,5 ng g<sup>-1</sup> para CV-ICP OES.

Foi feito um estudo para avaliar a influência das concentrações do HCl e NaBH<sub>4</sub> no sinal do Hg. De acordo com a Figura 12, as concentrações de HCl e NaBH<sub>4</sub> escolhidas foram 2% e 0,5%, respectivamente. Concentrações mais altas dos reagentes não foram escolhidas, tendo-se em vista a maior formação de espuma no separador gás líquido. Foi também avaliada a vazão do gás de arraste (Ar), sendo escolhida a vazão de 75 mL min<sup>-1</sup>. Esta vazão foi escolhida em função da melhor sensibilidade e retorno do sinal do Hg à linha base.

Na Figura 13 são mostradas as curvas de calibração de Hg obtidas.



**Figura 12.** Influência das concentrações de HCl e NaBH<sub>4</sub> no sinal do Hg determinado por CV-AAS. Uma solução teste contendo 20 µg L<sup>-1</sup> de Hg foi utilizada. As barras de erro representam o desvio padrão de três determinações.



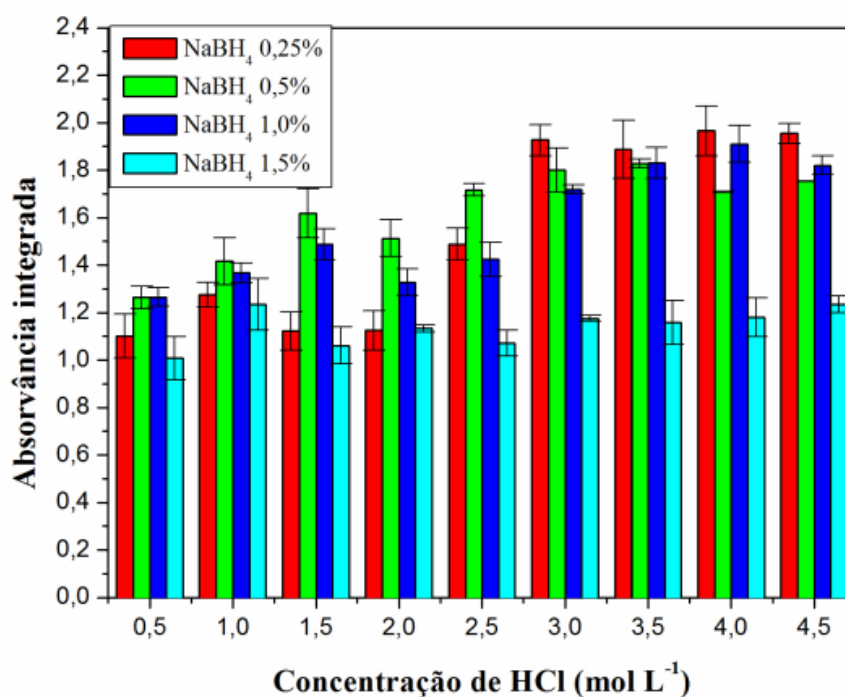
**Figura 13.** Curvas de calibração de Hg obtidas por (a) CV-AAS e (b) CV-ICP OES

Comparando-se as curvas de calibração mostradas na Figura 13, observa-se que o coeficiente de correlação linear é praticamente o mesmo para as curvas de calibração obtidas por ambas as técnicas. No entanto, comparando-se os LDs e LQs na Tabela 6, verifica-se que a técnica com maior sensibilidade é a CV-ICP OES. Segundo os testes de recuperação

realizados, a recuperação do Hg variou de 95% a 125%, para ambas as técnicas utilizadas para a determinação do elemento, estando de acordo com a variação geralmente observada na determinação de baixas concentrações de Hg.

#### 5.4 DETERMINAÇÃO DE As POR HG-AAS e HG-ICP OES

Conforme já citado anteriormente, diversos parâmetros precisam ser avaliados nas determinações mediante HG, para se obter maior sensibilidade para as espécies voláteis. Assim, foi avaliada a influência das concentrações de NaBH<sub>4</sub> e de HCl no sinal do As. Conforme a Figura 14, a maior sensibilidade é observada para NaBH<sub>4</sub> 0,25% e HCl 3 mol L<sup>-1</sup> a 4 mol L<sup>-1</sup>.



**Figura 14.** Influência das concentrações de HCl e NaBH<sub>4</sub> no sinal de As determinado por HG-AAS. Uma solução teste contendo 5 µg L<sup>-1</sup> de As foi utilizada. As barras de erro representam o desvio padrão de três determinações.

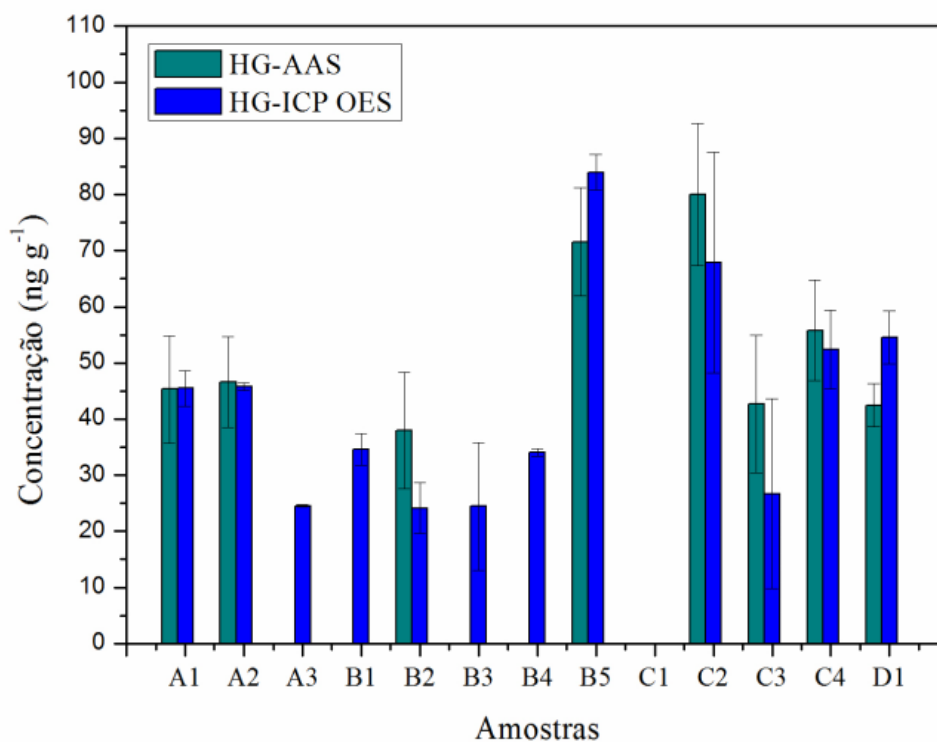
A vazão do gás de arraste foi também avaliada, sendo escolhido  $50 \text{ mL min}^{-1}$  de argônio, em função da sensibilidade e retorno do sinal do As à linha de base.

Quando se iniciou os testes com as amostras, verificou-se formação de uma grande quantidade de espuma no separador gás-líquido, devido à matriz do arroz ser formada principalmente por proteínas e carboidratos. Estes compostos em contato com meio ácido, juntamente com a liberação de gás hidrogênio, produzem espuma. Esta espuma foi reduzida através da adição de agente anti-espumante, de forma que a concentração do agente na solução da amostra fosse 0,5 % (v/v).

Durante as análises foi observado elevado desvio padrão relativo (RSD) para o As, acima de 20%, empregando-se a amostragem direta de suspensão. O elevado valor foi associado com a decantação das partículas sólidas na suspensão. Mesmo com agitação magnética da suspensão (com o uso de uma barra magnética) previamente à amostragem, as medidas de absorvância integrada foram imprecisas. Assim, foi feita a adição de um tensoativo (Triton X-100) previamente à aferição final do volume da suspensão, sendo que sua concentração na suspensão foi 0,25, 0,5 e 1% (m/v). Uma condição de compromisso foi estabelecida para a concentração do Triton X-100; a concentração 0,5% (v/v) foi escolhida, visto que concentrações mais altas do surfactante promoviam a formação de espuma, enquanto que em concentrações inferiores a 0,25% não havia redução do RSD. Assim, com as concentrações de anti-espumante e tensoativo adequadas, a recuperação de As no arroz foi superior a 90% e o RSD menor que 10%.

Os LDs obtidos para o As no arroz digerido, sendo o elemento determinado por HG-AAS e HG-ICP OES, foram  $36,6 \text{ ng g}^{-1}$  e  $19,8 \text{ ng g}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 6). Sendo assim, o As não foi detectado nas amostras A3, B1, B3, B4 e C1 por HG-AAS. O As na amostra C1 também não foi detectado por HG-ICP OES, conforme pode ser observado na Figura 15, a qual mostra os resultados para as amostras digeridas.

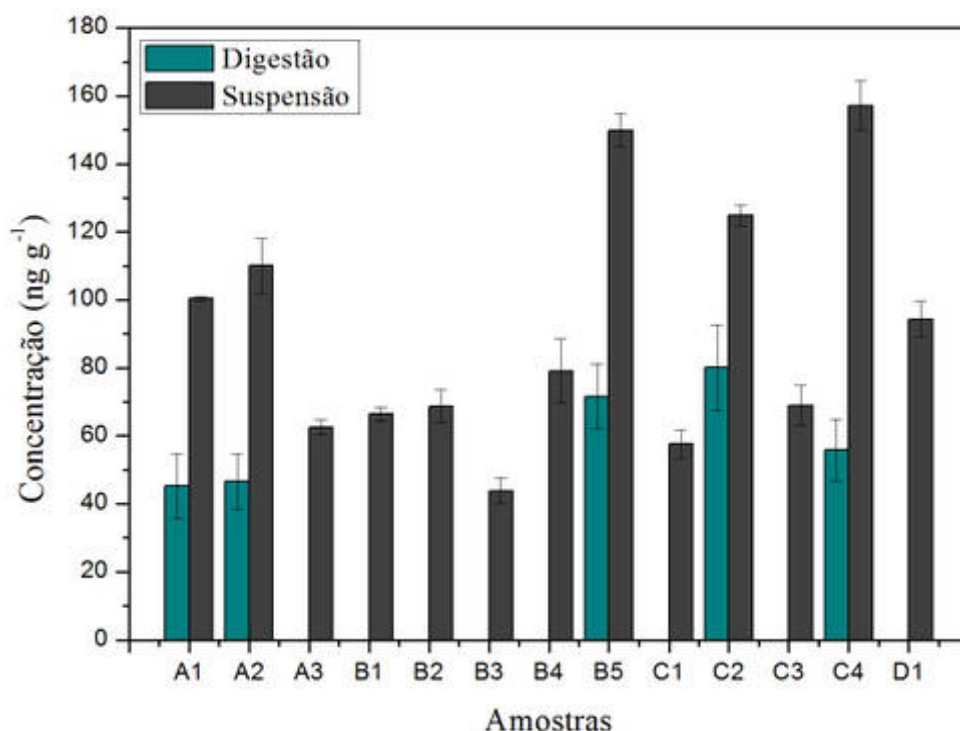
Nas amostras preparadas por digestão, obteve-se, em geral, resultados semelhantes para as técnicas de HG-AAS e HG-ICP OES. O coeficiente de correlação linear das curvas de calibração foi também similar (0,9969 para HG-AAS e 0,9979 para HG-ICP OES).



**Figura 15.** Concentração de As encontrada nas amostras de arroz digeridas, determinada mediante as diferentes técnicas; barras não mostradas referem-se a concentrações de As abaixo do LD. As barras de erro representam o desvio padrão de três determinações.

Na Figura 16 são comparadas as concentrações de As encontradas nas amostras digeridas ou analisadas na forma de suspensão, sendo o analito quantificado por HG-AAS. Verifica-se na Figura 16 que a concentração de As na amostra digerida é cerca de duas vezes menor e isto pode ser devido à perda de As durante a digestão, uma vez que os frascos de PTFE poderiam não estar completamente vedados, ou o As pode ter migrado pelas paredes do frasco. Outro fator que deve ser considerado é a concentração de HNO<sub>3</sub>, que é alta por causa da digestão, podendo acarretar a formação de óxidos de nitrogênio, compostos que dificultam a formação de hidretos. Desta forma, foram considerados exatos apenas os resultados obtidos para As na amostra preparada na forma de suspensão, como sendo o teor total de As. Segundo a literatura, a amostragem por suspensão diminui os riscos de perda do analito e de contaminação<sup>6-136</sup>. Sendo assim, os resultados encontrados estão de acordo com o previsto na literatura. A concentração de As encontrada em todas as amostras foi menor que a concentração máxima permitida pela legislação brasileira<sup>47,48</sup>, que é de 1000 ng g<sup>-1</sup>. No

entanto, verifica-se que as amostras de arroz integral (A2, B5, C2, C4 e D1) são as que contem o maior teor de As, indicando que o As, provavelmente, está presente em maior quantidade no farelo, já que parte deste é preservada no beneficiamento do arroz integral.



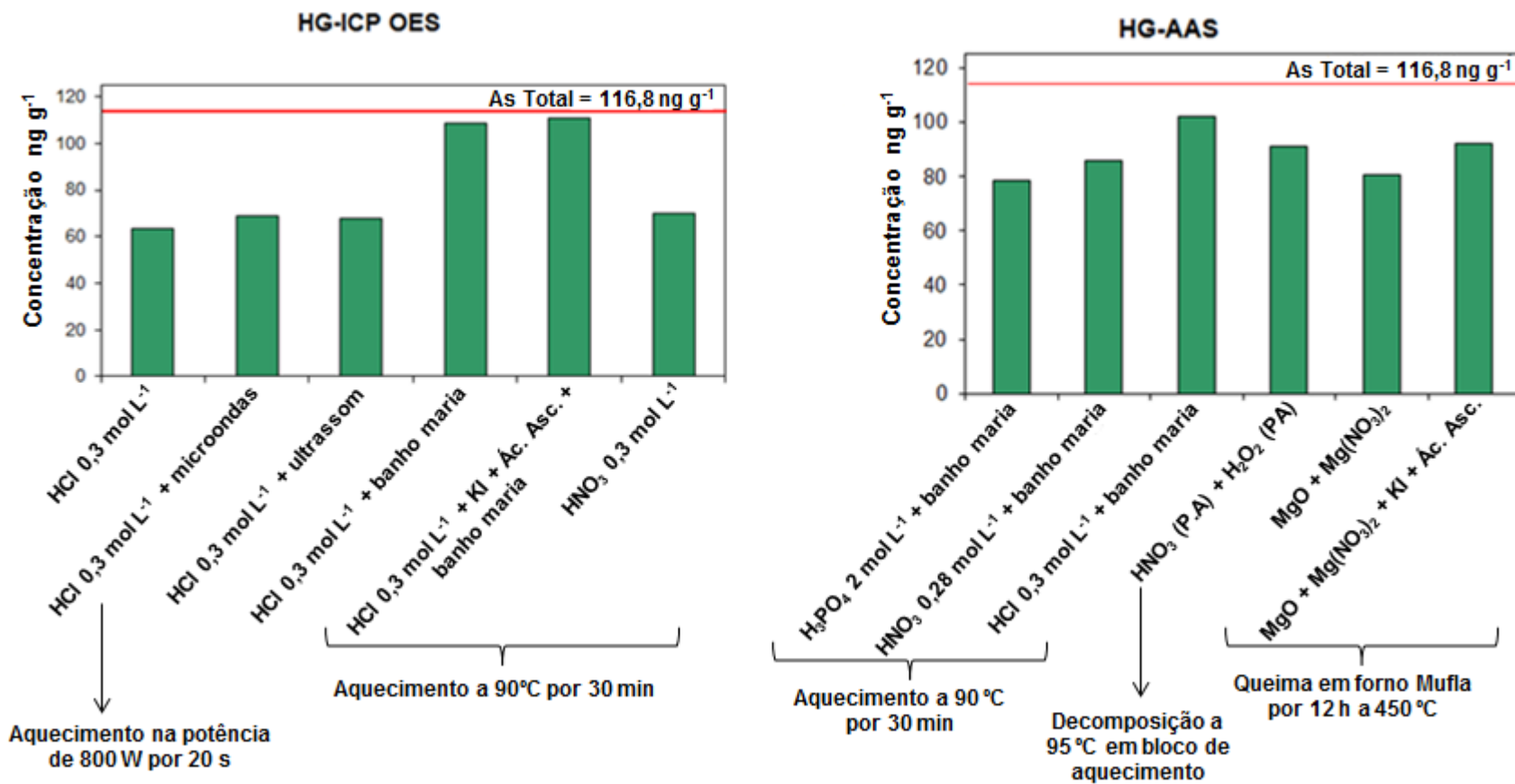
**Figura 16.** Concentração de As encontrada nas amostras de arroz digeridas ou em forma de suspensão, determinadas por HG-AAS; barras não mostradas referem-se a As abaixo do LD. As barras de erro representam o desvio padrão de três determinações.

## 5.5 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE As EM ARROZ VISANDO A ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA

Para avaliar a extração do As, foi escolhida aleatoriamente uma amostra de arroz integral. Essa amostra foi decomposta em forno de microondas e o As total determinado por ICP-MS. O valor (116,8 ng.g<sup>-1</sup>) assim encontrado, serviu de referência. Seguindo-se a literatura, diversos métodos de extração de As em arroz foram testados, a fim de se obter a concentração de referência. Buscou-se o tratamento mais brando possível para a amostra, no intuito de se preservar a integridade das espécies de As, visando-se a análise de especiação química do elemento na amostra de arroz.



A amostra de arroz integral escolhida foi submetida a diversos métodos de extração, propostos por Calle *et al.*<sup>157</sup> e Huang *et al.*<sup>159</sup>. Foram testadas diferentes misturas extratoras, com ou sem aquecimento, além da aplicação de ultrassom e radiação microondas, conforme indicado na Figura 17.



**Figura 17.** Concentração de As total encontrada em arroz, em função os diferentes métodos de extração e técnicas de medição. O valor de referência é 116,8 ng g<sup>-1</sup>, indicado pela linha vermelha nas figuras.

De acordo com a Figura 17, a maior eficiência de extração foi para HCl 0,3 mol L<sup>-1</sup> e aquecimento em banho-maria, tanto para HG-ICP OES quanto HG-AAS. Segundo Huang *et al.*<sup>159</sup>, o meio extrator HNO<sub>3</sub> 0,28 mol L<sup>-1</sup> foi melhor, mas, segundo os apêndices A e B, o mesmo não foi observado no presente trabalho. Sendo assim, o solvente escolhido para extração das espécies de As foi o HCl 0,3 mol L<sup>-1</sup>, com aquecimento em banho-maria por 30 minutos a 90 ± 5°C. No entanto, o método de extração proposto Huang *et al.*<sup>159</sup> não foi descartado, sendo mais adiante testado para a análise de especiação química de As. A mistura de HCl 0,3 mol L<sup>-1</sup> mais o meio redutor de KI e ácido ascórbico mesmo obtendo um valor mais próximo do de referência para ambas as técnicas utilizadas não foi escolhido, uma vez que observou-se interconvenção entre as espécies segundo testes realizados previamente a etapa de análise de especiação.

### 5.5.1 ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO

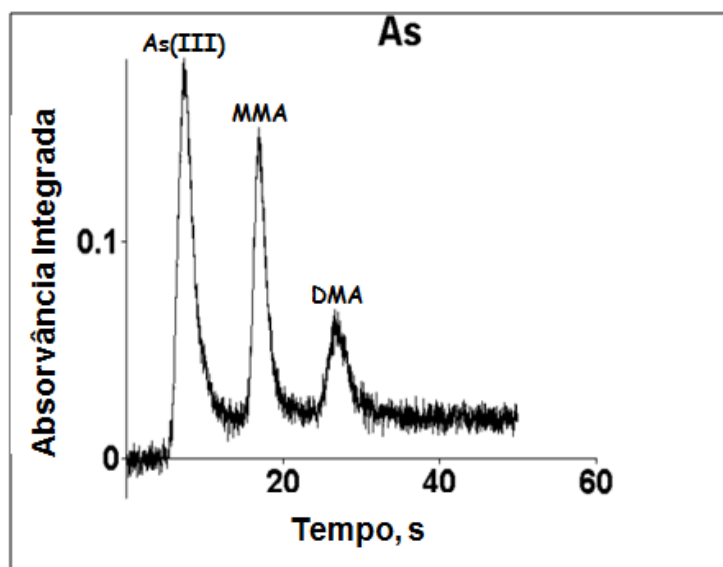
A primeira etapa desta parte do trabalho consistiu na montagem do sistema HG-CT-AAS. Após a montagem do sistema, conforme descrito no ítem 4.5.3, foram feitos estudos preliminares para avaliar a sensibilidade e resolução de separação das espécies de As. Para isso, foi utilizada uma solução teste contendo 10 µg L<sup>-1</sup> de As (III) na forma inorgânica, MMA e DMA. Desta forma, 0,5 mL da solução teste foram injetados no separador gás-líquido, havendo a formação dos hidretos de As (gerados a partir da reação com NaBH<sub>4</sub>) e posterior retenção dos mesmos por aprisionamento criogênico no tubo em forma de “U”. Em seguida, o tubo foi aquecido e as espécies de As volatilizadas e detectadas por AAS. As condições iniciais aplicadas foram estabelecidas de acordo com estudos feitos por Moraes *et al.*<sup>6</sup> e Matousek *et al.*<sup>5</sup>.

Após vários testes preliminares, foi verificado que nas paredes do tubo em “U” acumulava-se água, como produto da reação de redução do As pelo NaBH<sub>4</sub>. A água condensava-se quando o tubo era imerso no N<sub>2</sub> líquido e depois retirado. Mesmo com aquecimento, a água condensava-se nas paredes do tubo e o problema foi somente contornado aumentando-se o tempo de aquecimento para 15 s. Após estes testes, ainda não se observavam sinais distintos para as três espécies. Por causa disso, foram adicionados ao tubo 100 µl de 1,1,1-trimetilsilano. A adição foi feita através de 4 injeções sucessivas, com 25 µL a cada injeção, 8 h antes de iniciar nova análise. Esse reagente também foi utilizado por Moraes *et*

*al.*<sup>6</sup>, no sentido de evitar perdas do analito por adsorção, reduzir os efeitos de alargamento dos sinais e, também, melhorar a sensibilidade. Contudo, mesmo purgando-se o tubo com o gás carreador, os picos não eram bem separados.

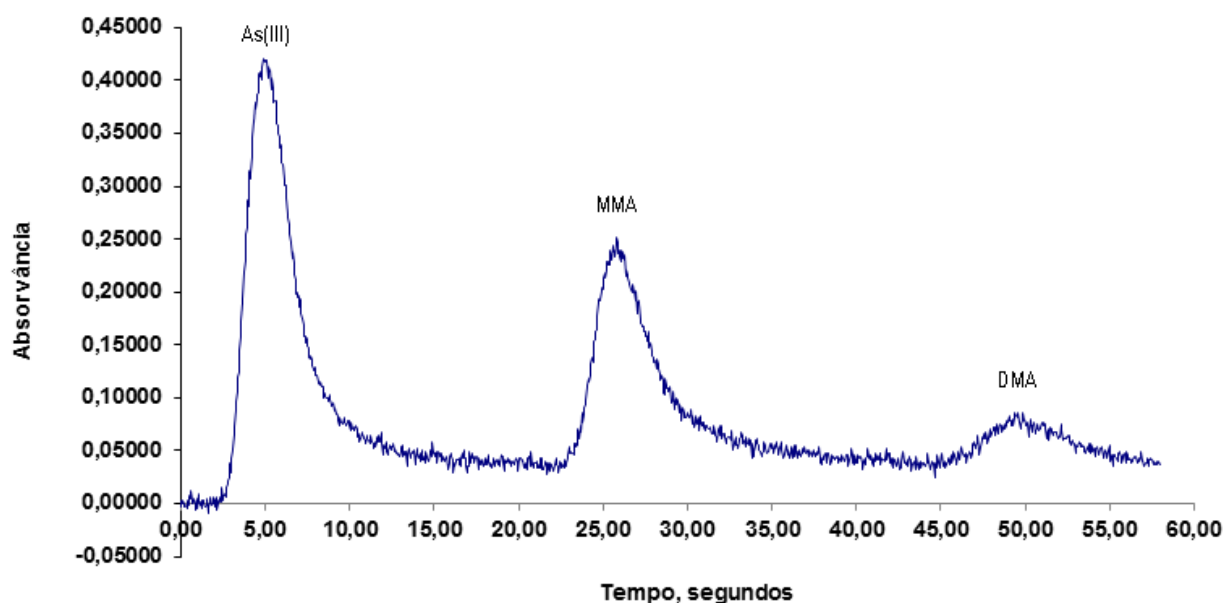
Modificações no programa do FIAS 100 e nas etapas manuais (Tabela 5) foram feitas para se atingir uma melhor resolução e boa sensibilidade. Porém, a resolução entre as espécies de MMA e DMA não era ainda adequada por causa da taxa de aquecimento. Como o ponto de ebulição das duas espécies é relativamente próximo, o controle da taxa de aquecimento é fundamental para a separação. Portanto, foram feitos diversos testes de aquecimento em diferentes potências (com o sistema Variac), até ser possível separar as duas espécies. O tempo de cada etapa de aquecimento é citado na Tabela 5.

Mediante os testes acima citados, a sensibilidade foi adequada e as condições estabelecidas também foram adequadas para a obtenção de uma boa resolução para as espécies de As na forma inorgânica, MMA, DMA. Na Figura 18 é mostrado o perfil do cromatograma obtido para As na forma inorgânica, MMA e DMA por HG-CT-AAS.



**Figura 18.** Cromatograma preliminar das espécies de As, obtido por HG-CT-AAS para 0,5mL de solução contendo  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de As (III) na forma inorgânica, MMA e DMA.

Foi possível observar que a sensibilidade era menor e a resolução pior do que aquelas obtidas por Moraes *et al.*<sup>6</sup> Sendo assim, o tempo de permanência do tubo em “U” em  $\text{N}_2$  líquido e o aquecimento foram ajustados. Com isso, foram obtidas melhor resolução e sensibilidade, como se observa na Figura 19.



**Figura 19.** Cromatograma das espécies de As, obtido por HG-CT-AAS para 0,5 mL de solução contendo  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de As (III) na forma inorgânica, MMA e DMA.

Observou-se que mediante controle manual do aprisionamento criogênico poderia haver mudança nos tempos de retenção das espécies, em até 10 s, visto que podem ocorrer alterações no tempo de imersão ou remoção do tubo em “U”, no  $\text{N}_2$  líquido. Mas, como não havia nenhum sistema automatizado disponível, pelo menos até o término deste trabalho, foi necessária muita atenção para que a variação de tempo acima referida fosse mínima. Depois dos muitos testes realizados não foram observadas variações maiores que 3 segundos para o tempo de retenção das espécies, desde que o nível de  $\text{N}_2$  líquido no interior do “Dewar” fosse sempre mantido constante. Foi observado que o nível de  $\text{N}_2$  líquido devia ser restabelecido após seis ciclos completos de leitura do sinal, para que os tempos de retenção das espécies não variasse mais do que 3 s.

### 5.5.2 ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE As EM ARROZ

Após a montagem e verificação do desempenho do sistema HG-CT-AAS, foi feita a análise de especiação química de As em amostra de arroz integral, por amostragem direta de suspensão. Neste sentido, a HG em conjunto com o aprisionamento criogênico em fase estacionária foram utilizados para separação das espécies de arsênio e a AAS para a detecção das mesmas.

De acordo com a Figura 17 e os apêndices A e B, a concentração da suspensão foi fixada em 5% (m/v), sendo utilizado HCl 3 mol L<sup>-1</sup> e aquecimento em banho maria para a extração das espécies de As.

Por causa da elevada formação de espuma no meio reacional no separador gás-líquido, foi avaliado se a espuma formada poderia estar retendo as espécies voláteis formadas a partir da reação com o NaBH<sub>4</sub> e, assim, impedir que as mesmas fossem detectadas. Os resultados obtidos mostraram que as recuperações não foram quantitativas para uma solução de As (III) na forma inorgânica, que foi testada.

No sentido de reduzir a formação de espuma, o emprego de um agente anti-espumante foi avaliado. As concentrações de anti-espumante avaliadas foram de 0,25; 0,5; 1 e 1,5% (m/v), seguindo-se trabalhos prévios<sup>6,145</sup>. A redução de espuma somente não foi significativa para 0,25% do anti-espumante. Porém, não houve diferença significativa (avaliação visual) na redução da quantidade de espuma formada, para 0,5% e 1,5% de anti-espumante. De acordo com o meio carreador (HCl 20% v/v) e redutor (NaBH<sub>4</sub> 0,5% m/v) previamente avaliados, a concentração do agente anti-espumante na suspensão foi fixada em 0,5% (v/v).

Assim como na determinação de As total, para diminuir o RSD os estudos revelaram a mesma condição de compromisso, com respeito à concentração de Triton X-100 na suspensão. Para diminuir a formação de espuma, a concentração de surfactante na suspensão foi fixada em 0,5% (v/v).

A concentração da solução de NaBH<sub>4</sub> também foi avaliada. Para isso, soluções contendo NaBH<sub>4</sub> 0,25; 0,5; 1; 1,5 e 2% (m/v) foram utilizadas. Para As na suspensão com 5% (m/v) de amostra, preparada em Triton X-100 0,5% (m/v), os resultados obtidos foram melhores para NaBH<sub>4</sub> ≤ 0,5% (m/v). Para concentrações maiores de NaBH<sub>4</sub>, o RSD obtido foi superior a 20%, enquanto que para NaBH<sub>4</sub> 0,25 ou 0,5% (m/v) o RSD não foi superior a 10%. Isto pode estar associado com a maior formação de espuma em presença de NaBH<sub>4</sub> mais concentrado.

### 5.6.2.1 PARÂMETROS DE MÉRITO DO MÉTODO DE ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO (As<sup>III</sup>, MMA e DMA) POR HG-CT-AAS

Para calcular o LD e o LQ, foram preparadas curvas de calibração para as três espécies de As determinadas mediante HG-CT-AAS. Os resultados desse estudo encontram-se na Tabela 7.

**Tabela 7.** Parâmetros de mérito do método de análise de especiação química de As por HG-CT-AAS em função dos diferentes solventes.

Meio de extração	HCl 0,3mol L <sup>-1</sup>			HNO <sub>3</sub> 0,28mol L <sup>-1</sup>		
	As <sup>III</sup>	MMA	DMA	As <sup>III</sup>	MMA	DMA
Coeficiente de correlação linear da curva de calibração, r	0,9965	0,9925	0,9903	0,9984	0,9910	np
Coeficiente angular da curva de calibração <sup>a</sup>	0,1279	0,1022	0,0342	0,1222	0,0735	np
Limite de detecção (LD), µg L <sup>-1</sup>	0,15	0,2	0,5	0,2	0,8	np
Limite de quantificação (LQ), µg L <sup>-1</sup>	0,5	0,6	1,75	0,7	2,7	np
Limite de detecção (LD), ng g <sup>-1</sup>	3,0	4,0	10,0	4,0	7,0	np

np: não foi possível a calibração nesse meio.

<sup>b</sup>: a faixa de concentração foi 1,0 a 5,0 µg L<sup>-1</sup>

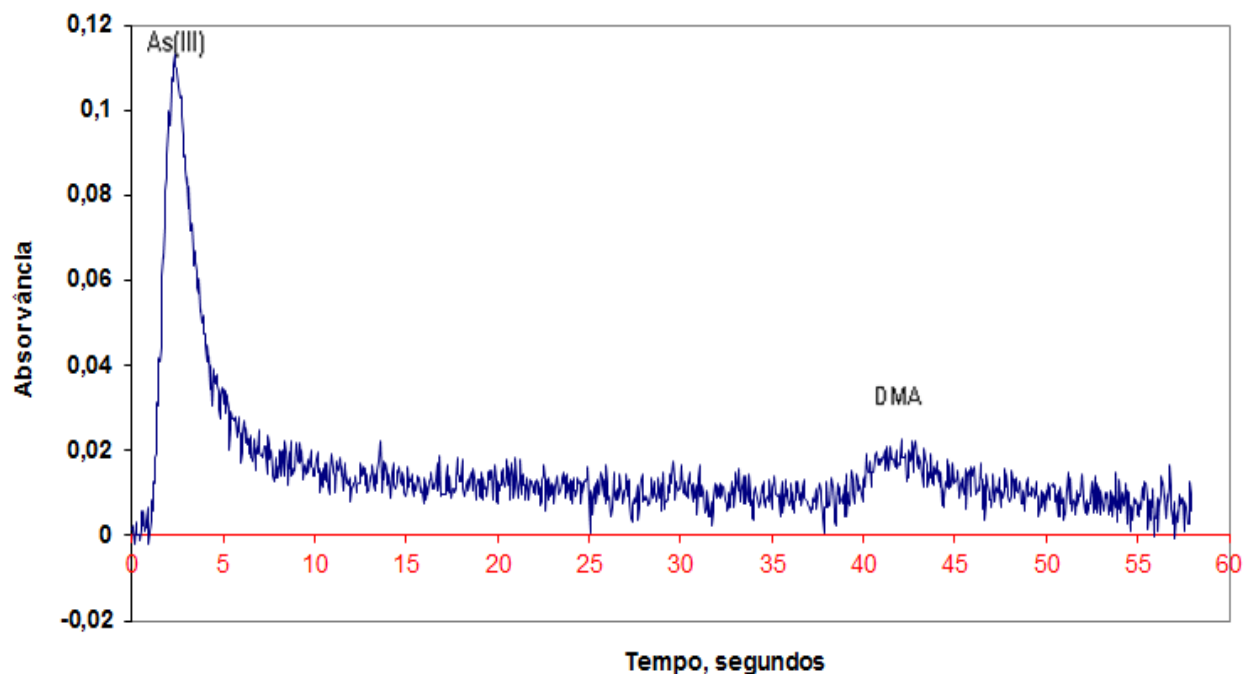
De acordo com a Tabela 7, a linearidade da curva de calibração e a sensibilidade pioram com a metilação do As. Isto porque quanto mais metilada for a espécie de As, menos eficiente é a geração do hidreto correspondente<sup>81</sup>.

Foi avaliada a possibilidade de usar HNO<sub>3</sub> 0,28 mol L<sup>-1</sup> para extrair as espécies de As em arroz na forma de suspensão. Os parâmetros das curvas de calibração, o LD e LQ são citados na Tabela 7.

Comparando-se os dados da Tabela 7, é possível verificar que há diferença entre os LDs e LQs encontrados, sendo o HCl melhor para as espécies metiladas. No caso do DMA, a determinação foi impossível em HNO<sub>3</sub>. Assim, conclui-se que o HNO<sub>3</sub> 0,28 mol L<sup>-1</sup> não era adequado para o preparo da amostra e, portanto, o HCl 0,3 mol L<sup>-1</sup> foi empregado. O HNO<sub>3</sub> 0,28 mol L<sup>-1</sup> foi proposto por Huang *et al.*<sup>159</sup>, mas no trabalho realizado pelos autores foi utilizado a técnica de LC-ICP-MS para a análise de especiação química de As. No presente trabalho, a impossibilidade de medir DMA, usando-se HNO<sub>3</sub> 0,28 mol L<sup>-1</sup> como solvente extrator das espécie, pode estar relacionada com a geração de hidretos.

### 5.6.2.2 RESULTADO DA ANÁLISE

Na Figura 20 é mostrado o cromatograma para a amostra de arroz integral analisada, onde se observam os sinais de As(III) e DMA. Os resultados encontrados estão de acordo com os publicados por Huang *et al.*<sup>159</sup> e Barbosa *et al.*<sup>16</sup>, os quais também não detectaram MMA em várias amostras de arroz analisadas.



**Figura 20.** Cromatograma obtido por HG-CT-AAS para as espécies de As em 0,5 mL de suspensão (5% m/v) de arroz integral, preparada com HCl 0,3 mol L<sup>-1</sup>.

Mediante a integração dos picos mostrados na Figura 20 e utilização das equações de regressão linear calculadas para cada espécie, foi possível determinar as concentrações de iAs DMA na amostra de arroz. Salienta-se que tanto o As (III) quanto o As (V) são determinados na forma de As (III) por HG-CT-AAS.

Observando-se os resultados mostrados na Tabela 9, conclui-se que a metodologia desenvolvida para a análise de especiação química de As em arroz pode ser aplicada, uma vez que foram obtidos resultados exatos.



**Tabela 8.** Resultados obtidos na determinação das espécies de arsênio por HG-CT-AAS e comparação com a concentração total do elemento encontrada por outras técnicas.

Técnica Preparo	Concentração em ng g <sup>-1</sup>		
	iAs	MMA <sup>III</sup>	DMA <sup>III</sup>
HG-CT-AAS	56,0 ± 4,8	nd	54,9 ± 9,2
Suspensão	Total = 110,9		
	<b>As total</b>		
HG-AAS	116,7 ± 10,7		
Decomposição em bloco			
ICP-MS			
Decomposição em forno de microondas	116,8 ± 2,4		

nd: não detectado

### 5.6.2.3 EXATIDÃO DOS RESULTADOS

Para a avaliar a exatidão dos resultados, além da comparação com a concentração total encontrada (ver a Tabela 9), foram feitos testes de recuperação das espécies As (III) na forma inorgânica, MMA e DMA. Para 3 µg L<sup>-1</sup> das espécies, as recuperações foram superiores a 95%.

### 5.7 SEPARAÇÃO DAS ESPÉCIES As(III) E As(V)

O emprego da HG permite a determinação seletiva das espécies inorgânicas de As (III) e As (V). A maioria das espécies de As (III) é oxidada em um reduzido espaço de tempo, principalmente se a amostra for previamente tratada. Para a determinação das espécies inorgânicas de As (III) e As (V) foi utilizada a HG-AAS, sendo as soluções de referência e a amostra preparadas da mesma forma que foi feito para a análise de especiação química de As por HG-CT-AAS.

O procedimento foi baseado no trabalho de Borba *et. al.*<sup>162</sup>, no qual foi feita a determinação de iAs e As total em água. A separação de As (III) e As (V) baseia-se na geração seletiva dos hidretos das espécies através da variação da concentração do meio redutor. Ao se utilizar HCl 10 mol L<sup>-1</sup> e NaBH<sub>4</sub> 1,0% (m/v) determina-se As (III) + As (V). Pela diferença entre o As total determinado nesta condição e o As (III) determinado utilizando-se HCl 4,0 mol L<sup>-1</sup> e NaBH<sub>4</sub> 0,1%, obtém-se a concentração de As (V). Essas condições foram adotadas para a determinação de As (III) e As (V) na amostra de arroz integral analisada.

Segundo a literatura<sup>163</sup>, empregando-se uma solução de HCl 4,0 mol L<sup>-1</sup> e de NaBH<sub>4</sub> 0,1% é possível determinar apenas o As (III), sem interferência de As (V). Para verificar esta condição foram analisadas duas soluções teste, a primeira delas contendo 20 µg L<sup>-1</sup> de As (V) e a outra 20 µg L<sup>-1</sup> de As (V) + 20 µg L<sup>-1</sup> de As (III). Para a primeira solução foi obtido um sinal ao nível do branco, enquanto que na segunda solução o As (III) foi detectado. Também de acordo com a literatura, quando se emprega HCl 10 mol L<sup>-1</sup> e NaBH<sub>4</sub> 0,6% o sinal do As(III) é significativamente maior que o do As (V), o que parece estar relacionado com a maior facilidade de formação da arsina a partir do As(III)<sup>164-166</sup>.

Para a determinação do iAs (As (III) + As (V)) utilizou-se HCl 10 mol L<sup>-1</sup> e NaBH<sub>4</sub>1% (m/v);nessas condições a quantidade de espuma gerada no separador gás/líquido pôde ser controlada. Em seguida, analisou-se a amostra de arroz integral e os resultados obtidos são mostrados na Tabela 9. A concentração do iAs na amostra de arroz foi determinada mediante uma curva de calibração preparada a partir de soluções contendo As (V) em HCl 10 mol L<sup>-1</sup>. As concentrações de As (V) e As (III) foram determinadas conforme acima discutido.

De acordo com a Tabela 9, somando-se as concentrações das espécies de As determinadas na amostra de arroz integral – As (III) + As (V) + DMA - obteve-se 125,7 ng g<sup>-1</sup>. Comparando-se esse valor com os valores encontrados mediante as outras técnicas a concordância é de 108%, considerada satisfatória. Os LDs e LQs para as espécies inorgânicas de arsênio foram 18,5 ng g<sup>-1</sup> e 62 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente. Vale salientar que inexistente arroz certificado quanto à concentração de espécies individuais e, sendo assim, a exatidão foi avaliada somente por comparação com a concentração total de As e testes de recuperação, a variação nos resultados pode estar relacionada com a proximidade dos valores encontrados com os respectivos limites de detecção e de quantificação.

**Tabela 9.** Concentração das espécies inorgânicas de As encontradas no arroz analisado e comparação com a concentração total de As determinada por diferentes técnicas.

<b>Técnica</b>	<b>Concentração em ng g<sup>-1</sup></b>	
	<b>As (III)</b>	<b>As (V)</b>
<b>Preparo</b>	44,5 ± 0,5	26,3 ± 0,3
HG-AAS	<b>As (III) + As (V) = 70,8 ± 0,3</b>	
Suspensão	<b>DMA = 54,9 ± 9,2</b>	
	<b>Total = 125,7</b>	
	<b>As total</b>	
HG-AAS	116,7 ± 10,7	
Decomposição em bloco		
ICP-MS	116,8 ± 2,4	
Decomposição em forno de micro-ondas		

## 6. CONCLUSÕES

As concentrações de As, Cd e Pb encontradas no arroz estão de acordo com a legislação brasileira. Foram encontradas maiores concentrações de As, Cd, Pb, Zn, Mn e Cu nas amostras de arroz integral, quando comparadas com as outras amostras de arroz da mesma variedade, indicando a prevalência destes elementos no farelo do arroz. As menores concentrações de Pb, Mo, Cr, Se e Co foram encontrados no arroz parboilizado.

O HCl mostrou-se mais adequado que o HNO<sub>3</sub> para o preparo de amostra de arroz na forma de suspensão, para a determinação de As. Este elemento pôde ser quantificado no arroz, tanto por HG-AAS quanto HG ICP OES. Com relação ao Hg, o LD obtido por CV-ICP OES foi 4 vezes menor que o obtido por CV-AAS. Mesmo assim, o Hg não foi detectado em nenhuma das amostras de arroz analisadas. Quanto aos demais elementos investigados, o Cr, Ni, Mo, Zn, Mn e Cu puderam ser quantificados por ICP OES. Enquanto isso, para quantificar Cd, Pb, Tl, Sb, Sn, Co e Se, devido às baixas concentrações no arroz, foi necessário o uso da técnica de ICP-MS.

O método de análise de especiação química de As, com amostragem direta de suspensão e determinação de As (III), MMA e DMA por HG-CT-AAS foi adequado, pois se obteve uma boa eficiência de separação de iAs, MMA e DMA. Além disso, a recuperação das espécies adicionadas à amostra antes do preparo da mesma foi quantitativa (95%) e a soma das concentrações das espécies concordante com a concentração total de As determinada por outras técnicas. O HCl 0,3 mol L<sup>-1</sup> mostrou-se adequado para as extrações das espécies de As no arroz, na forma de suspensão, que foi preparada mediante a adição de HCl 0,3 mol L<sup>-1</sup> e aquecimento por 30 min em banho-maria a 95 °C.

As espécies inorgânicas de As (As (III) e As (V)) foram eficientemente determinadas por HG-AAS. O LD obtido foi adequado, possibilitando quantificação das duas espécies de As no arroz.

Apesar das dificuldades encontradas devido à operação manual do sistema para fazer o trapeamento criogênico, conclui-se que o mesmo é viável, pois foram obtidos resultados exatos. Além disso, a análise de especiação química é de baixo custo e o LD e a frequência analítica são satisfatórios. Sendo assim, pode ser usado para a análise de especiação química de As em arroz, como alternativa à LC-ICP-MS.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fowler, B. A. *et al.* Arsenic. In: Nordberg, G.F. *et al.* *Handbook on the Toxicology of Metals* 3 ed. Amsterdam: Elsevier, **2007**, 19, 637-807.
2. Poletti, J.; Quantificação de elementos-traços em arroz. UFRGS, **2012**. *Trabalho de conclusão de curso*.
3. Montes-Bayón, M.; DeNicola, K.; Caruso, J. A.; *J. Chromatogr. A* **2003**, 457-476.
4. Michalke, B.; *Trends Anal. Chem.* **2002**, 21, 142-153.
5. Matousek, T.; Hermández-Zavala, A.; Svoboda, M.; Langrová, L.; Adair, B. M Drobná, Z.; Thomas, D. J.; Styblo, M.; Dedina, J.; *Spectrochim. Acta Part B* **2008**, 63, 396-406.
6. Moraes, P. D.; Análise de Especificação de Arsênio por HG ASS com aprisionamento criogênico e uso de multiatomizador. UFSM. **2010**. *Tese de Doutorado*.
7. Karadjova, I. B.; Petrov, P. K.; Serafimovski, T.; Tsalev, D. L.; *Spectrochim, Acta Part B.* **2007**, 62, 258-268.
8. Goessler, W.; Kuehnelt, D.; *Comprehensive Analytical Chemistry*. Vol. XLI, Elsevier, Amsterdam, **2003**, p. 1027-1044.
9. Matusiewicz, H.; Slachcinski, M.; *Microchem. J.* **2006**, 82, 78-85.
10. Walter, M.; Marchezan, E.; Avila, L.A.; *Ciência Rural* **2008**, 38, 4, 1184-1192.
11. FAO. Food and agriculture organization of the United Nations. Statistical Databases **2010**. Disponível em: [http:// faostat. fao.org/site/339 default.aspx](http://faostat.fao.org/site/339default.aspx). Acesso em 25 de maio de 2012.
12. Bandeira, D.L.; Quincozes, E.D.R.F. (Eds.). *Cultivo do Arroz Irrigado no Brasil. Embrapa*, **2005**.
13. IRGA. Instituto Rio Grandense de Arroz. Disponível em: <http://www.irga.rs.gov.br/>. Acesso em 25 de maio **2012**.
14. Nitzke, J.A.; Biedrzycki, A.; *Terra de Arroz*. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/alimentus/terradearroz/index.htm>. Acesso em: 27 maio **2012**.
15. Dulley, R.D. *Informações Econômicas*, SP, 33, 10, out. **2003**.
16. Barbosa Jr. F.; Batista L.B.; Souza. M.O.J.; Souza S.S.; *J. Hazard. Mater.* **2011**, 191, 342.
17. Handbook on the Toxicology of Metals. 3ed. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/book/9780123694133>. Acesso em 30 de maio de 2012.

18. Magalhães, V.F. Contaminação ambiental por arsênio: o caso da Baía de Sepetiba. UFRJ, **1996**. *Dissertação de mestrado*.
19. Baroni, C. D.; *Pathologica* 1997, v. 23, p. 475-480.
20. Feldmann, J.; An appetite for arsenic. *Chem. Br.* **2010**, p. 31-32.
21. Stanley, M. E.; *Environmental. Chemistry*. 7 ed. London: Lewis, **2000**, p. 187
22. Jain, C. K.; Ali, I.; *Water Res.* **2000**, 34, 17, 4303–4312.
23. World Health Organization. Environmental Health Criteria 224: Arsenic and arsenic compounds. Geneva: WHO, **2001** p. 512.
24. Liang, L.; Lazoff, S.; Cfan, C.; Horvat, M.; Woods, J.; *Talanta*, **1998**, 47, 569–583.
25. Azevedo, F. A.; Chasin, A. M. Bahia de Sepetiba. *Gerenciamento da Toxicidade*. Rio de Janeiro: Atheneu, **2003**, p.203.
26. Gunderson, E.L. *JAOAC Int.*, 1995, 78, 1353-1363.
27. United State Environmental Protection Agency. Arsenic rule benefits analysis: a SAB review. Disponível em < [http:// www.epa.gov/sab/eco/008.pdf](http://www.epa.gov/sab/eco/008.pdf)> Acesso em: 25 de maio **2012**.
28. Apostoli, P.; *J. Chromatogr. B* **2002**, 778, 1-2, 63-97.
29. Basu, A.; Mahata, J.; Gupta, S, A. K.; *Mutat. Res.* **2001**, 488, 171- 194.
30. Benramdane. L.; Accominotti, M.; Fanton, L.; Malicier, D.; Vallon, J.J.; *Clin. Chem.* **1999**, 45, 306-310.
31. Yamanaka, K.; Ohtsubo, K.; Hasegawa, A.; Hayashi, H.; Kanisaw, M.; Okada, S.; *Carcinogenesis* **1996**, 17, 767-770.
32. Wels, B.; Sperling, M. Atomic absorption spectrometry. 3.ed. New York: Wile-VCH, **1999**.
33. Codex Alimentarius Commission. *Priority list of food additives, contaminants and naturally occurring toxicants proposed for evaluation by JECFA*. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.org/>.
34. Nebel, B.J. Richard T. Environmental Science: the way world works. 5.ed. New Jersey: Prentice Hall, **1996**.
35. Brow, K. G.; Kuo, T. L.; Ryan, L.M.; Abernathy, C.; *Hum. Ecol. Risk Assess.* **2000**, 6, 1055-1074.
36. Demesmay, C.; Olle, M.; Porthault, M.; Fresenius; *J. Anal. Chem.* **1994**, 348, 205.

37. Das, H. K.; Mitra, A. K.; Sengupta, P.K.; Hossain, A.; Islam, F.; Rabbani, G. H.; *Environ. Int.* **2004**, 30, 3, 383- 387.
38. Schoof, R. A.; Yost, L. J.; Eickhoff, J. et al.; *Hum. Ecol. Risk Assess.* **1998**, 4, 1, 117-135.
39. Burló, F.; Guijarro, A. A. et al.; *J. Agr. Food. Chem.* **1999**, 47, 3, 1247-1253.
40. Andrew, A.; Meharg, M.D.; Rahman, M.; *Environ. Sci. Technol.* **2003**, 37, 229-234.
41. Chakrabarti, D.; Rahman, M.M.; Paul, K. et al.; *Talanta*, **2002**, 58, 3- 22.
42. Bennett, J.P.; Chiriboga, E.; Coleman, J.; Waller, D.M.; *Sci. Total Environ.* **2000**, 246, 2-3, 261-269.
43. Moore, L.E.; Lu, M.; Smith, A. H.; *Arch. Environ. Health* **2002**, 57, 201-206.
44. Berg, M.; Schertnleib, R.; *Environ. Sci. Technol.* **2001**, 35, 13, 2621-2626.
45. Lofredo, C. A.; Aposhian, V.; Cebrian, M.; Yamauchi.; Silberged, K. E.; *Environ. Res.* **2003**, 92, 85-91.
46. Dabeka, R. W.; Mckenzie, A. D.; Lacroix, G. M. et al.; *J AOAC Int.* **1993**, 76, 14-25.
47. ANVISA. Portaria nº 685, de 27 de agosto de **1998**. “Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos” e seu anexo: “limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos”.
48. BRASIL. Decreto nº 55871, de 26 de março do 965. Modifica o Decreto nº 50040, de 24 de Janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimento, alterado pelo Decreto nº 691 de 13 de Abril de 1962. Diário Oficial da União, 09 de abril de 1965.
49. Santo, G. M. L. Avaliação e Otimização de Metodologias de Determinação do Arsênio total, As (III) e As (V) em amostras de Água e Alimentos e a Relevânciados Riscos por Ingestão. Fundação Oswaldo Cruz, **2004**. *Dissertação de Mestrado*.
50. Nordberg, G.F. et al. Handbook on the Toxicology of Metals 3E. 3 ed. Elsevier, **2007**.
51. Zeng, F. et al.; *Environ. Pollution*, **2008**, 153, 2, 309-314.
52. Shimbo, S.; *Sci. Tot. Environ.* **2001**, 281, 165-75.
53. Fangmin, C. et al.; *Sci. Tot. Environ.* **2006**, 359, 156-166.
54. XIAO, T. et al.; *The Sci. of the Total Environ.*, **2004**, 318, 223-244.
55. Templeton, D.M.; Aries S.F.; Cornelis, R.; Danielsson, L.G.; Muntau H.; Van wen H.P.; *Pure Appl. Chem.* **2000**, 72, 1453 - 1470.
56. Moore, J.W.; Ramamoorthy, S.; *Heavy Metals in Natural Waters. Applied Monitoring and Impact Assessment*, Springer-Verlag: Berlin, **1984**.

57. Hempel, M.; Chau, Y.K.; Dutka, B.J.; Mcinnis, R.; Kwan, K.K.; Liu, D.; *Analyst* **1995**, 120,721 - 724.
58. Harrison, R.M; Rapsomanikis, S.; *Environmental Analysis Using Chromatography Interfaced with Atomic Spectrometry*. Ellis Horwood: Chichester, England. **1989**.
59. Tsuda, T.; Babazono, A.; Ogawa, T.; Hamada, H.; Mino, Y.; Aoyama, H.; Kurumatani, N.; Nagira, T.; Hotta, N.; Harada; M.; Inomata, S.; *Appl. Organomet. Chem.*, **1992**, 6, 309- 322.
60. Zobrist, J.; Dowdle, P.R.; Davis, J.A.; *J. of Environ. Sci. and Technol.*, **2000**, 34, 4747 – 4753.
61. Gallardo, M.V.; Bohari, Y.; Astruc, A.; Potin-Gautier, M.; Astruc, M.; *Anal. Chim Acta* **2001**, 441, 257-268.
62. Gómez-ariza, J.L.; Sanchez rodas, P.; Giraldez, I. *J. of Analyt. Atomic Spectrom.*, **1998**, 13, 1375–1379.
63. Manning, B.A.; Martens, D.A.; *Environ. Sci. Technol.* **1997**, 31, 171-177.
64. Aposhian, H.V.; *Chem. Res. Toxicol.* **2000**, 13, 693 - 697.
65. Schoof, R.A.; Yost, L.J.; EickhoffIF, J.; Crecelius, E.A.; Cragin, D.W.; Meacher, D.M.; Menzel, D.B.; *Food Chem.Toxicol.* **1999**, 37, 839-846.
66. Tao, S.S.H.; Bolger, P.M.; *Food. Addit.Contam.* **1999**, 16, 465-472.
67. Capar, S.G.; Cinninham, W.C.; *J AOAC Int.* **2000**, 83,157-177.
68. Li, W.H.; Wei C.; Zhang, C.; Van Hulle, M.; Cornelis, R.; Zhang, X.R.; *Food Chem. Toxicol.* **2003**, 41, 1103-1110.
69. Heinrich-Ramm, R.; Mindt-Prüfert, S.; SzadkowskiI, D.; *J. Chromatogr B*, **2002**, 778, 263-273.
70. Entwisle, J.; Hearn, R.; *Spectrochim. Acta Part B* **2006**, 61, 438-444.
71. Serafimovski, I.; Aradjova, I.B.; Stafilov, T.; Tsalev, D.L.; *Microchem. J.*, **2006**, 83, 55-60.
72. Sanz, E.; Muñoz-Olivas, R.; Cámara, C.; *Anal. Chim. Acta*, **2005**, 535, 227-235.
73. Heitkemper, D.T.; Vela, N.P.; Stewart, K.R.; Westphal, C.S.; *J. of Analyt. Atomic Spectrom.*, **2001**, 16, 299-306.
74. Helgesen, H.; Larsen, E.H.; *Analyst*, **1998**, 123,791-796.
75. Vela, N.P.; Heitkemper, D.T.; Stewart, K.R.; *Analyst*, **2001**, 126, 1011-1017.
76. Caruso, J.A.; Heitkemper, D.T.; B'hymer, C.; *Analyst*, **2001**, 126, 136-140.



77. Vela, N.P.; Heitkemper, D.T.; *J. AOAC Int.* **2004**, 87,244 - 252.
78. Pyles, R.A.; Woolson, E.A.; *J. of Agricult. and Food Chemist.*, **1982**, 30, 866-870.
79. Londesborough, S.; Mattusch, J.; Wennrich, R.; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, **1999**, 363, 577-581.
80. Bohari, Y.; Lobos, G.; Pinochet, H.; Pannier, F.; Astruc, A.; Potin-gautier, M.; *Journal of Environmental Monitoring*, **2002**, 4, 596-602.
81. Yuan, C.; Jiang, G.; He, B.; *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2005**, 20, 103-110.
82. Cava-Montesinos, P.; De La Guardia, A.; Teutsch, C.; Cervera M.L.; De La Guardia, M.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, 493, 195-203.
83. Duester, L.; Diaz-Bone, R. A.; Kusters, J.; Hirner, A.V.; *J. Environ.Monit.* **2005**, 7, 1186-1193.
84. De la calle guntiñas, M.B.; Ceulemans, M.; Witte, C.; Lobinski, R.; Adams, F.C.; *Microchimica Acta*, **1995**, 120, 73-82.
85. Slejkovec, Z.; Van elteren, J.T.; Byrne, A.R. ; *Analytica Chimica Acta*, **1998**, 358, 51-60.
86. Morin, P. *et al.*; *Fresenius. J. Anal. Chem.* **1992**, 342, 357-362.
87. Camara, C.; *Anal. Bional. Chem.* **2005**, 385, 2, 257-288.
88. Gomez-ariza, J. L. *et al.*; *Journal of Chromatography A*, **2001**, 938, 211-224.
89. Ali, I.; Jain, C. K.; *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **2004**, 84, 12, 947-964.
90. Feldmann, J. *et al.*; *Clin. Chem.*, **1999**, 45, 11, 1997-1998.
91. Dagnac, T. *et al.*; *Analytica Chimica Acta*, **1998**, 1-3, 364, 19-30.
92. Gomez-ariza, J. L. *et al.*; *Analyst*, **2000b**, 125, 3, 401-407.
93. Mcsheehy, S. *et al.*; *Analyst*, **2001**, 126, 7, 1055-1062.
94. Lamble, K. J.; Hill, S. J.; *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 334, 261-270.
95. Pardo-Marinez, M. *et al.*; *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 441, 1, 29-36.
96. Rattanachongkiat, S. *et al.*; *J. Environ. Monit.*, **2004**, 6, 4, 254-261.
97. Ackerman, A. H. *et al.*; *Environ. Sci. Technol.*, **2005**, 39, 14, 5241-5246.
98. Sanz, E. *et al.*; *Anal. Chim. Acta.*, **2005**, 535, 227-235.
99. Soros, C. *et al.*; *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, 377, 1, 25-31.
100. Narukawa, T. *et al.*; *Talanta* **2008**, 77, 1, 427-432.
101. Yuan, C. G. *et al.*; *J. Anal. At. Spectrom.*, **2005**, 20, 2, 103-1010.

102. Yuan, C. G. *et al.*; *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2005**, 20, 2, 103-110.
103. Wrobel, K.; Caruso, J.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, 381, 2, 31.
104. Devesa, V. *et al.*; *Food. Chem. Toxicol.* **2008**, 46, 1, 1-8.
105. Dietz, C. *et al.*; *J. Chromatogr.*, **2007**, 1153, 1-2, 114-117.
106. Nobrega, J. A. *et al.*; *Spectrochim. Acta, Part B*, **2002**, 57, 12, 1855-1876.
107. Ackley, K. L. *et al.*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **1999**, 14, 5, 845-850.
108. Yang, G. D. *et al.*; *Chinese J. Anal. Chem.*, **2009**, 37, 4, 532-536.
109. Santos, H. M.; Capelo, J. L.; *Talanta*, **2007**, 73, 795-802.
110. Caruso, J. A. *et al.*; *Analyst*, **2001**, 126, 2, 136-140.
111. Milstein, L. S. *et al.*; *J. Agri. Food Chem.* **2003**, 51, 15, 4180-4184.
112. Wahlen, R. *et al.*; *Anal. At. Spectrom.* **2004**, 19, 7, 876-882.
113. Wuilloud, R. G. *et al.*; *J. Anal. At. Spectrom.* **2006**, 21, 11, 1214-1223.
114. Brady, D. V.; Montalvo, J. G.; Glowacki, G.; Pisciotta, A.; *Anal. Chim. Acta*, **1974**, 70, 448-452.
115. Bendicho, C.; Loss-Vollebregt, M. T. C.; *J. Anal. At. Spectrom.*, **1991**, 6, 353-374.
116. Stephen, S. C. ; Littlejohn, D.; Ottaway, J. M.; *Analyst*, **1985**, 110, 1147-1151.
117. Cal-Pietro, M. J.; Felipe-S, M.; Carloseno, A.; Andrade, J. M.; Lopez-M, P.; Muniategui, S.; Prada, D. A. *Talanta*, **2002**, 1-51.
118. Cabrera, C.; Lorenzo, M.L.; López, M.C.; *Journal of AOAC Internacional*, **1995**, 78, 1061-1067.
119. Miller-Ihli, N.J.; *Spectrochim. Acta Part B – At. Spectro*, **1997**, 52, 431-436.
120. Magalhães, C. E. C.; Arruda, M. A. Z.; *Quim. Nova*, **1998**, 21, 459-466.
121. Bernejo, B. P.; Moreda, P. A.; Moreda, P. J.; *J. Anal. At. Spectrom.*; **1997**, 12, 301-306.
122. Nolte, J.; *ICP Emission Spectrimetry: A practical Guide Weinheim: Willey-VCH*, **2003**, p. 267.
123. Silva, F. V.; Trevisan, L. C.; Nogueira, A. R. A.; Nóbrega, J. A.; *Spectrochim. Acta Part B* **2002**, 57, 1905-1913.
124. Trevisan, L. C.; Nóbrega, J. A.; *Environ. Sci. Techonol.*, **2007**, 18, 4, 678-690.
125. Giné, M. F.; *Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente*, ICP-AES. CENA: Piracicaba, **1998**, p. 143.
126. Pereira. D. C.; Avaliação e correção de interferências na determinação de As e Se por técnicas com plasma acoplado indutivamente. UFSC, **2012**. *Tese de Doutorado*.

127. Becker, J. S. Inorganic Mass Spectrometry: Principles and Applications. John Willey & Sons; Chichester, England **2007**, p. 517.
128. Petry, C.F. Determinação de elementos-traço em amostras ambientais por ICP OES. UFRGS, **2005**. *Dissertação de Mestrado*.
129. Pozebon, D. *et al.*; *J. Anal. At.Spectrom.*, **2008**, 23,1281-1284.
130. Williams, P. N. *et al.*; *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, 43, 15, 6024-6030.
131. Nardi, E.P. *et al.*; *Food Chem.* **2009**, 112, 727-732.
132. Oliveira, A.; Baccan, N.; Cadore, S.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2012**, 23, 5, 838-845.
133. Okada, I.A. *et al.*; *Cienc. Tecnol. Aliment.*, **2007**, 27, 3, 492-497.
134. González, A.; Armenta, S.; Guardia, M.; *Food Chem.*, **2011**,126, 1254-1260.
135. Welz, V.; Sperling, M.; *Atomic Absorption spectroscopy*, 3. ed. Weinheim: WileyVCH, **1999**.
136. Sneddon, J. B. D. Faha *et al.*; *Microchem. J.*, **1993**, 48, 3, 318- 325.
137. Howard, A. G.; *J. Anal. At.Spectrom.*, **1997**, 12, 267 - 272.
138. D'ulivo, A.; *Spectrochim. Acta Part B*, **2010**, 65, 360-375.
139. D'Ulivo; Dedina; Mester, Sturgeon, Wang e Welz; *Pure Appl. Chem.* **2011**, 83, 6, 1283-1340.
140. Dedina, J.; Tsalev, D. L.; *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*; John Wiley & Sons, Inc: Chichester. **1995**.
141. Greenfield, S.; *TrAc.* **1995**, 14, 435-442.
142. Brindle, I. D.; Lugowska, E. *Spectrochim. Acta Part B.* **1997**, 52, 163-176.
143. Ellend, N.; Rohrer, C.; Grasserbauer, M.; Broekaert, J. A. C.; *Fresen. J. Anal. Chem.* **1996**, 356, 99 –101.
144. Cava - Montesinos, P.; Faculdade de Química, Universidad de Valencia, **2005**. Tese de doutorado.
145. Matusiewicz, H.; *Appl. Spectrosc. Rev.* **2003**, 38, 263.
146. Kratzer, J.; Dedina, J.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 388, 793.
147. Dedina, J.; *Spectrochim. Acta Part B*, **2007**, 62, 846.
148. Dedina, J.; In: *Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation*; Meyers, R.A. (Edt.) John Wiley & Sons, Inc.:New York, **1998**, 524.
149. Alp, O.; Ertas, N.; *Talanta* **2010**, 81, 516-520.
150. Alp, O.; Ertas, N.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, 23, 976.

151. Muñoz E., Palmero S.; *Talanta* **2005**, 65, 613.
152. Kumar A. R., Riyazuddin P.; *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2007**, 87, 469.
153. Zhu Z. L., Qin Q.; *Spectrosc.Spectral. Anal.* **2008**, 28, 1176.
154. Rabieh S., Hirmer A. V., Matschullat J.; *J. Anal.At. Spectrom.* **2008**, 23, 544.
155. Vieira M.A., Welz B, Curtius A. J.; *Spectrochim. Acta Part. B* **2002**, 57 2057.
156. Li Y. C.; Jiang S.J.; Chen S. F.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, v.372, p. 365.
157. Calle, M.B. *et al.*; *Trends.Anal Chem.* **2011**,30, 4, 641-651.
158. Depoi, S. F. Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de metais e metalóides utilizando pré-concentração no ponto nuvem e ICP OES. UFRGS, **2012**. *Tese de doutorado*.
159. Huang, J.H.; Ilgen, G.; Fecher, P.; *J. Anal. At.Spectrom.* **2010**, 25, 800-802.
160. Collasiol. A., Pozebon D.; Maia M. S.; *Anal. Chim.Acta* **2004**, 518, 157.
161. Oliveira, A.; Baccan, N.; Cadore, S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2012** 23 838-845.
162. Borba, P. R; Coscione, R. A.; *Quim. Nova* **2009**, 32, 4, 970-975.
163. Shraim, A; Chiswell, B.; Olszowy, H.; *Talanta* **1999**,50,1109.
164. Carrero, P.; Malavé, A.; Burguera, J. L.; Burguera, M.; Rondón, C.; *Anal. Chim. Acta.* **2001**, 438, 195.
165. Burguera, M; Burguera, J. L.; *Talanta* **1977**, 44, 1581.
166. Le, X. C.; Cullen, W. R. ; Reimer, K. J.;*Anal. Chim. Acta* **1994**, 285, 277.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A

Testes de extração para determinações por ICP-OES

Amostras	Extração																	
	1°			2°			3°			4°			5°			6°		
	Média	DP	RSD	Média	DP	RSD	Média	DP	RSD	Média	DP	RSD	Média	DP	RSD	Média	DP	RSD
Susp 1% rice	24.82	0.73	2.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp 2.5% rice	28.36	0.23	0.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp 5.0% rice	28.26	1.01	3.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp 5% arroz maior	-	-	-	38.04	2.13	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp 5% arroz menor	-	-	-	38.94	1.60	4.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp 5% arroz N.Pen.	-	-	-	-	-	-	37.26	0.522	1.401	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp 5% arroz Pen.	-	-	-	-	-	-	40.33	1.85	4.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp 5% arroz HCl 80C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	110.06	63.56	57.75	-	-	-	-	-	-
Susp 5% arroz HCl 80C 2x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	286.41	6.13	2.1	-	-	-	-	-	-
Susp. Fria 5% arroz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	48.75	0.52	1.06	54.87	0.86	1.56
Susp. Decant 5% Fria	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	56.16	5.68	10.11	48.77	5.19	10.65
Susp. Quente 5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	85.44	2.78	3.3	71.18	1.16	1.6
Susp. Decant 5% Quente	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	73.74	0.36	0.5	56.86	3.68	6.5

- Obs (1): 1°, 2°, 3° extrações foram feitas com H<sub>2</sub>O.
- Obs (2): As demais foram feitas em HCl 2,5%.

Amostras	Extração														
	7°			8°			9°			10°			11°		
	Média	DP	RSD	Média	DP	RSD	Média	DP	RSD	Média	DP	RSD	Média	DP	RSD
Susp. Fria 5% arroz	63.57	1.65	2.59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp. Decant 5% Fria	63.95	1.03	1.61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Susp. Quente 5%	69.00	0.22	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Susp. Decant 5% Quente	65.55	1.62	2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Susp 5% Quente 2X	67.74	0.93	1.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Suspensão 5% arroz c/ultra	-	-	-	67.90	1.63	2.401	-	-	-	-	-	-	-	-	
Suspensão 5% arroz ultra/aquecimento	-	-	-	105.53	1.46	1.386	-	-	-	-	-	-	-	-	
Suspensão 5% arroz aquecimento	-	-	-	-	-	-	108.49	2.17	2.002	-	-	-	-	-	
Suspensão 5% arroz ultra/aquecimento	-	-	-	-	-	-	105.13	1.25	1.186	-	-	-	-	-	
Suspensão arroz KI+ Ac.Asc.+Aque	-	-	-	-	-	-	-	-	-	111.06	2.95	2.66	-	-	
Suspensão arroz Aque.+KI+ Ac.Asc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	103.68	0.42	0.403	-	-	
Suspensão 5% arroz aquecimento	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	70.12	0.84	1.20
Susp. Decant 5% Quente	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

- Obs.(1): Foi utilizado HCl 2,5% como meio para a suspensão da 8° à 10° extração .
- Obs.(2): 11° Extração foi utilizado HNO<sub>3</sub> 5%, para preparar a suspensão.

## APÊNDICE B

Testes de extração para determinações por AAS.

Amostras	1°	2°	3°	4°	5°	6°			7°	8°		
	Média	Média	Média	Média	Média	Média	Desvio	RSD	Média	Média	Desvio	RSD
Susp. 5% em HCl 2,5%	47,70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp. 5% em H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 2M	78,42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp. 5% em HNO <sub>3</sub> 0,28M	-	64,84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp. 5% em HNO <sub>3</sub> 0,28M	-	-	57,11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp. 5% em HNO <sub>3</sub> 0,28M centrifugada	-	-	66,40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp. 5% em HNO <sub>3</sub> 0,28M	-	-	-	68,84	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp. 5% em HNO <sub>3</sub> 0,28M(2x)	-	-	-	96,40	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp. 5% em HNO <sub>3</sub> 0,28M(4x)	-	-	-	90,96	-	-	-	-	-	-	-	-
Susp. 5% em HNO <sub>3</sub> 0,28M(2x)	-	-	-	-	79,73	-	-	-	-	-	-	-
Susp. 5% em HNO <sub>3</sub> 0,28M(4x)	-	-	-	-	95,10	-	-	-	-	-	-	-
Susp. 5% em HNO <sub>3</sub> 0,28M(4x)	-	-	-	-	-	85,54	5,68	6,64	-	-	-	-
Susp. 5% em HNO <sub>3</sub> 0,28M(5x)	-	-	-	-	-	85,01	3,35	3,94	-	-	-	-
Susp. 5% em HCl 2,5%	-	-	-	-	-	-	-	-	75,75	-	-	-
Susp. 5% em HCl 2,5% (2x)	-	-	-	-	-	-	-	-	74,14	-	-	-
Susp. 5% em HCl 2,5% (4x)	-	-	-	-	-	-	-	-	106,22	-	-	-
Susp. 5% em HCl 2,5% (5x)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	85,55	7,94	9,28
Susp. 5% em HCl 2,5% (4x)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	102,22	7,41	7,25
Susp. 5% em HCl 2,5% (2x)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	92,24	3,47	3,77
Susp. 5% em HCl 2,5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	97,37	2,37	2,44

