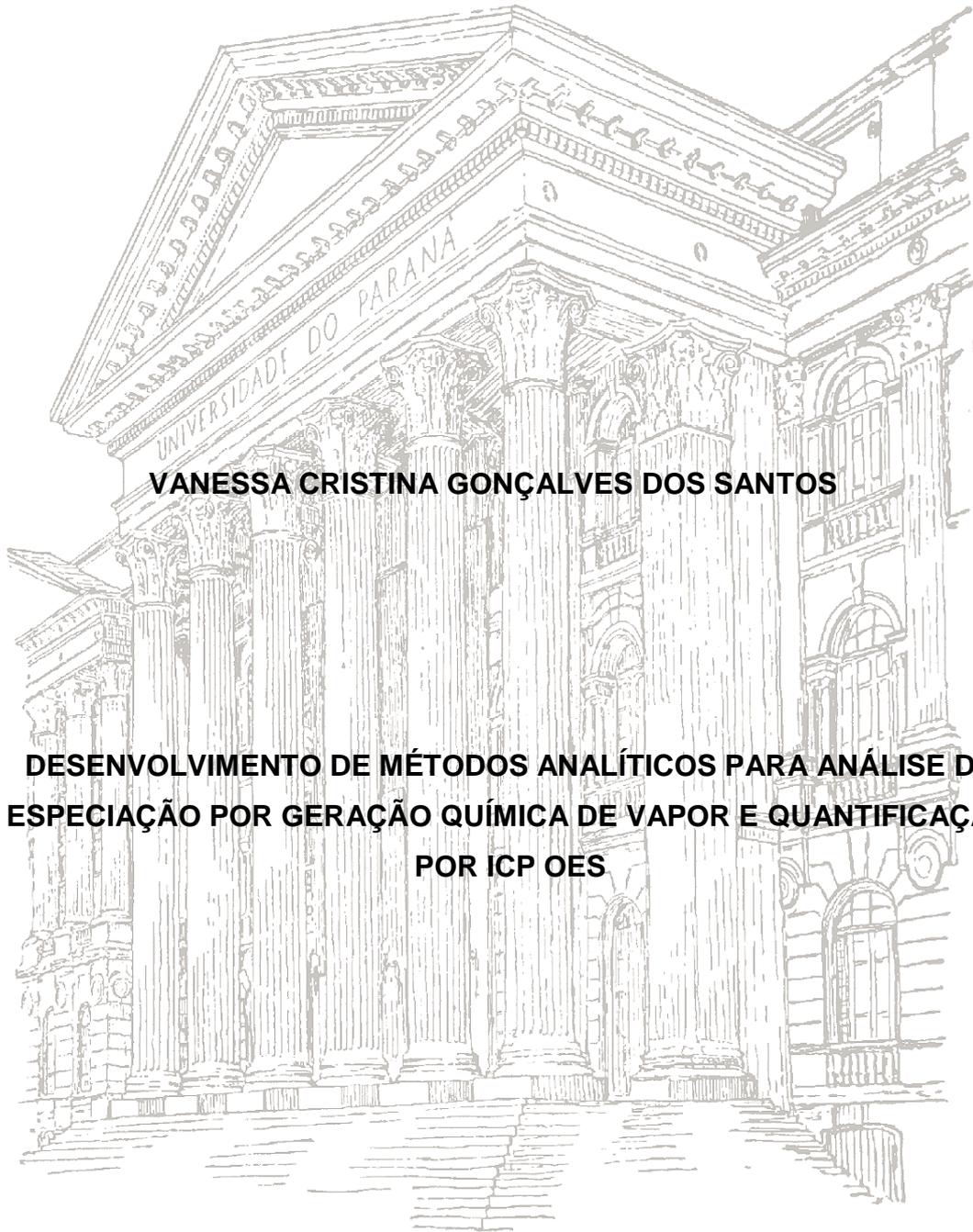


**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**



**VANESSA CRISTINA GONÇALVES DOS SANTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA ANÁLISE DE  
ESPECIAÇÃO POR GERAÇÃO QUÍMICA DE VAPOR E QUANTIFICAÇÃO  
POR ICP OES**

**Curitiba, Outubro de 2016**

**VANESSA CRISTINA GONÇALVES DOS SANTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA ANÁLISE DE  
ESPECIAÇÃO POR GERAÇÃO QUÍMICA DE VAPOR E QUANTIFICAÇÃO POR  
ICP OES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química do Departamento de Química, Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de doutora - Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Abate

Co-orientador: Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi

**Curitiba, Outubro de 2016**

---

S237d

Santos, Vanessa Cristina Gonçalves dos  
Desenvolvimento de métodos analíticos para análise de especiação por  
geração química de vapor e quantificação por ICP OES / Vanessa Cristina  
Gonçalves dos Santos. – Curitiba, 2016.  
83 f ; il. color : 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas,  
Programa de Pós-Graduação em Química, 2016.

Orientador: Gilberto Abate – Co-orientador: Marco Tadeu Grassi  
Bibliografia: p. 70-83.

1. Especiação (Química). 2. Vapores. 3. Espectrometria óptica. I.  
Universidade Federal do Paraná. II. Abate, Gilberto. III. Grassi, Marco Tadeu .  
IV. Título.

CDD: 541.342

---

TERMO DE APROVAÇÃO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA ANÁLISE  
DE ESPECIAÇÃO POR GERAÇÃO QUÍMICA DE VAPOR E  
QUANTIFICAÇÃO POR ICP OES**

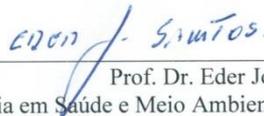
por

**VANESSA CRISTINA GONÇALVES DOS SANTOS**

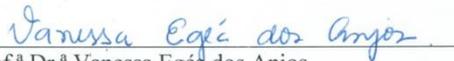
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Química, pela Comissão Examinadora composta por:



Prof. Dr. Gilberto Abate  
Orientador  
Dep. de Química – UFPR



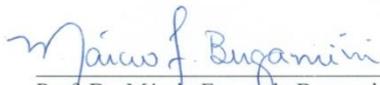
Prof. Dr. Eder José dos Santos  
Centro de Tecnologia em Saúde e Meio Ambiente – TECPAR



Prof.ª Dr.ª Vanessa Egéa dos Anjos  
Dep. de Química – UEPG



Prof.ª Dr.ª Andrea Pinto de Oliveira  
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Márcio Fernando Bergamini  
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 10 de outubro de 2016.

Ao meu esposo Caio Augusto, pelo apoio incondicional, pelo incentivo, pela confiança e pela compreensão. À minha mãe Claudia, à minha avó Nazareth, aos meus irmãos Andressa e Eduardo, ao meu sobrinho Andrey e às minhas tias Rosana e Maria Cristina, pelo incentivo e confiança.

Ao meu avô Joaquim José dos Santos que, com toda a certeza, sempre esteve comigo e foi meu incentivo para chegar até aqui.

"Nós comemos e respiramos a tabela periódica; pessoas apostam grandes quantias de dinheiro nela; filósofos a usam para sondar o significado da ciência; ela envenena pessoas e provoca guerras. Entre o hidrogênio no alto à esquerda e as impossibilidades produzidas pelo homem à espreita na parte inferior, pode-se encontrar bolhas, bombas, dinheiro, alquimia, politicagem, história, veneno, crime e amor. E até um pouco de ciência." - Sam Kean.

## Agradecimentos

À Deus, pela existência, força e coragem que me concedeste.

À minha família, pelo apoio e incentivo ao longo dos anos, em especial à meu esposo Caio Augusto de Toledo Gomes que em todos os momentos esteve à meu lado apoiando e dando-me força e palavras de incentivo.

Ao Prof. Dr. Gilberto Abate, pela orientação, ensinamento e dedicação ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi, pela orientação, ensinamentos, confiança e apoio constante ao longo do trabalho.

À Profa. Dra. Vanessa Egéa dos Anjos, ao Dr. Eder José dos Santos, à Profa. Dra. Andrea Pinto de Oliveira e ao Prof. Dr. Márcio Fernando Bergamini, pela participação e pelas importantes sugestões na defesa da Tese.

Ao Prof. Dr. Patricio Guillermo Peralta-Zamora, Prof. Dr. Márcio Fernando Bergamini e Profa. Dra. Andrea Pinto de Oliveira, pelas valiosas sugestões e contribuições no exame de qualificação, pelos ensinamentos e amizade.

A minha amiga Jeniffer Santos pelo apoio, compreensão, forças para os momentos difíceis e, acima de tudo, pela grande amizade conquistada ao longo destes anos de convívio, os quais levarei para sempre.

Ao Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA), pelo apoio financeiro fornecido para o desenvolvimento deste trabalho.

À CAPES, pela bolsa de doutorado concedida.

À coordenação de Pós-Graduação em Química da UFPR e ao Departamento de Química e a todas as pessoas que, de maneira direta ou indireta, fizeram parte integrante deste processo.

## Sumários

|   |     |
|---|-----|
| LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS .....   | x   |
| RESUMO.....   | xi  |
| ABSTRACT .....  | xii |
| 1. INTRODUÇÃO.....  | 1   |
| 1.1. Contaminantes .....  | 1   |
| 1.1.1. Antimônio.....   | 2   |
| 1.1.2. Arsênio .....  | 4   |
| 1.1.3. Mercúrio.....  | 7   |
| 1.2. Legislações .....  | 9   |
| 1.3. Técnicas analíticas destinadas à quantificação .....   | 11  |
| 1.3.1. Aspectos básicos da técnica espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) ..... | 11  |
| 1.3.1.1. Sistemas de introdução de amostras .....   | 14  |
| 1.3.1.1.1. Geração de Vapor Químico (CVG) .....   | 16  |
| 1.3.1.2. Interferências.....  | 21  |
| 1.4. Análise de Especificação .....   | 22  |
| 2. JUSTIFICATIVAS .....   | 24  |
| 3. OBJETIVOS.....   | 24  |
| 3.1. Objetivo Geral .....   | 24  |
| 3.2. Objetivos Específicos .....  | 25  |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS .....  | 25  |
| 4.1. Reagentes .....  | 25  |
| 4.2. Equipamentos e Materiais .....   | 26  |
| 4.2.1. Confecção de materiais .....   | 26  |
| 4.3. Quantificação das espécies de interesse.....   | 26  |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....   | 31  |
| 5.1. Otimização das condições para a determinação de Sb .....   | 31  |
| 5.1.1. Potência de radiofrequência .....  | 31  |
| 5.1.2. Vazão do gás de nebulização.....   | 32  |
| 5.1.3. Número de bobinas de reações.....  | 34  |
| 5.1.4. Concentração da solução transportadora (HCl).....  | 35  |
| 5.1.5. Concentração do agente redutor (NaBH <sub>4</sub> ).....   | 35  |
| 5.1.6. Concentração do agente complexante .....   | 36  |
| 5.1.7. Concentração do pré-redutor .....  | 38  |
| 5.1.8. Figuras de mérito .....  | 39  |
| 5.2. Otimização das condições para a determinação de As.....  | 46  |
| 5.2.1. Vazão do gás de nebulização.....   | 46  |

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 5.2.2. | Concentração da solução transportadora (HCl) .....                                  | 47 |
| 5.2.3. | Concentração do agente redutor (NaBH <sub>4</sub> ).....                            | 48 |
| 5.2.4. | Meio reacional para o estudo de especiação .....                                    | 49 |
| 5.2.5. | Otimização do meio para a pré-redução do As(V) a As(III) .....                      | 50 |
| 5.2.6. | Figuras de mérito .....   | 51 |
| 5.4.   | Análise de Especiação de Mercúrio .....   | 63 |
| 5.4.1. | Avaliação do efeito de ultrassom sobre as espécies Hg e Metil-Hg <sup>+</sup> ..... | 63 |
| 5.4.2. | Avaliação da temperatura .....  | 65 |
| 5.4.3. | Otimização da potência e tempo de ultrassom .....                                   | 66 |
| 5.4.4. | Figuras de mérito .....   | 67 |
| 6.     | CONCLUSÕES.....   | 69 |
| 7.     | REFERÊNCIAS .....   | 70 |

## Lista de Figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Estrutura química de antimoniato de metilglucamina empregado como droga em tratamentos de <i>Leishmaniose</i> .....                 | 3  |
| Figura 2. Ciclo biogeoquímico do arsênio.....   | 6  |
| Figura 3. Diagrama Eh-pH de arsênio em sistemas As-O <sub>2</sub> -S-H <sub>2</sub> O, sem a presença de microrganismos .....                 | 6  |
| Figura 4. Ciclo biogeoquímico do mercúrio no meio ambiente .....  | 8  |
| Figura 5. Diagrama de equilíbrio Eh/pH do mercúrio em sistemas aquáticos, sem a presença de microorganismos .....                             | 9  |
| Figura 6. Diagrama esquemático de um espectrômetro ICP OES (A) com observação radial (B). .....   | 12 |
| Figura 7. Seção transversal de uma tocha, bobina de indução e sequência para formação do plasma. ....   | 13 |
| Figura 8. Plasma com visão radial (a) e visão axial (b).....  | 14 |
| Figura 9. Nebulizador pneumático concêntrico .....  | 15 |
| Figura 10. Tipos de câmaras de nebulização: ciclônica (A) e Scott (B).....  | 16 |
| Figura 11. Métodos de geração de vapores .....  | 19 |
| Figura 12. Diferentes separadores gás-líquido. a -sistema de transbordo; b -separador de U-tubo; c -separador de fases para sistemas FI ..... | 20 |
| Figura 13. Esquema do sistema em fluxo e geração de hidretos (a); separador de fases (b).....   | 27 |
| Figura 14. Otimização da potência de radiofrequência .....  | 32 |
| Figura 15. Otimização da vazão do gás de nebulização.....   | 33 |
| Figura 16. Estudo da influência do caminho reacional utilizando uma bobina e duas bobinas de reação .....                                     | 34 |
| Figura 17. Variação na intensidade de sinal em diferentes concentrações de HCl. ....  | 35 |
| Figura 18. Estudo da influência da concentração de NaBH <sub>4</sub> na intensidade do sinal  | 36 |
| Figura 19. Variação da concentração de agente complexante (ácido cítrico). ....   | 37 |
| Figura 20. Otimização da concentração de pré-redutor (KI) sobre o sinal de Sb total ( ...   | 38 |
| Figura 21. Curvas analíticas obtidas para a avaliação da faixa de trabalho.....   | 40 |
| Figura 22. Variação na intensidade de sinal em diferentes vazões de gás de nebulização. ....  | 46 |
| Figura 23. Avaliação da influência da concentração de HCl sobre o sinal analítico .....   | 47 |
| Figura 24. Influência da concentração do agente redutor sobre o sinal analítico do AsH <sub>3</sub>   | 48 |
| Figura 25. Otimização do meio reacional para a etapa de especiação .....  | 49 |
| Figura 26. Curvas analíticas obtidas para a avaliação da faixa de trabalho para arsênio.  | 52 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 27. Curvas analíticas para avaliação da linearidade – especiação de As(III) e Sb(III) (A); Determinação de As e Sb total (B)..... | 58 |
| Figura 28. Otimização da concentração de NaBH <sub>4</sub> para a análise de especiação simultânea de As e Sb.....                       | 59 |
| Figura 29. Curvas analíticas obtidas para a avaliação de linearidade do As (III) e Sb (III) .....  | 60 |
| Figura 30. Recuperação de Hg(II) a partir da mistura contendo Hg(II) e metil-Hg <sup>+</sup> .....                                       | 64 |
| Figura 31. Resultados dos experimentos realizados com diferentes adições de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ( .                            | 65 |
| Figura 32. Resultados obtidos nos experimentos realizados com soluções de Hg(II) e metil-Hg <sup>+</sup> em 21 °C e 0 °C .....           | 66 |
| Figura 33. Avaliação do tempo de ultrassom para a etapa de conversão de metil-Hg <sup>+</sup> a Hg(II) .....                             | 66 |
| Figura 34. Avaliação da potência de ultrassom para a etapa de conversão de metil-Hg <sup>+</sup> a Hg (II) .....                         | 67 |
| Figura 35. Curva analítica para a determinação de Hg(II) .....   | 68 |

## Lista de Tabelas

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1. Parâmetros avaliados durante o estudo de otimização do método para Sb. ....  | 29 |
| Tabela 2. Parâmetros avaliados na otimização do método para a análise de especiação de As.....   | 29 |
| Tabela 3. Parâmetros avaliados para o desenvolvimento do método para análise de especiação de Hg.....  | 29 |
| Tabela 4. Comparação da razão da intensidade do sinal de Sb(III) / Sb(V).....  | 39 |
| Tabela 5. Dados obtidos pelas curvas analíticas apresentadas na Figura 21. ....  | 41 |
| Tabela 6. LOD e LOQ obtidos a partir dos parâmetros das curvas analíticas. Os valores entre parênteses denotam a concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) que foi considerada.....  | 41 |
| Tabela 7. Resultados obtidos para a determinação de Sb a partir de amostras reais. ....  | 43 |
| Tabela 8. Comparação dos parâmetros obtidos neste trabalho com os apresentados na literatura.....  | 45 |
| Tabela 9. Otimização da etapa de pré-redução de As(V) .....  | 51 |
| Tabela 10. Dados obtidos pelas curvas analíticas apresentadas na Figura 27. ....   | 53 |
| Tabela 11. LOD e LOQ obtidos a partir dos parâmetros das curvas analíticas. Os valores entre parênteses denotam a concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) que foi considerada..... | 53 |
| Tabela 12. Resultados obtidos para a determinação de As a partir de amostras reais. ...  | 55 |
| Tabela 13. Comparação dos parâmetros para arsênio obtidos neste trabalho com os apresentados na literatura.....  | 57 |
| Tabela 14. Concentração de pré-redutor e efeito sobre a razão entre as espécies.....   | 59 |
| Tabela 15. Equações das curvas analíticas e seus respectivos valores de LOD e LOQ..  | 60 |
| Tabela 16. Concentração de espécies de arsênio inorgânico e antimônio em amostras reais para o estudo de precisão.....   | 62 |
| Tabela 17. Parâmetros analíticos para a determinação de Hg(II). ....   | 68 |
| Tabela 18. Estudo de adição e recuperação de Hg(II) e metil-Hg <sup>+</sup> .....  | 68 |

## LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

- ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AFS:** Espectrometria de Fluorescência Atômica (Atomic Fluorescence Spectrometry)
- AAS:** Espectrometria de Absorção Atômica (Atomic Absorption Spectrometry)
- CCD:** Dispositivo de carga acoplada (charge-coupled device)
- CL50:** Concentração letal média
- CONAMA:** Conselho Nacional do Meio Ambiente
- CV:** Vapor frio (Cold vapor)
- CVG:** Geração de vapor químico (chemical vapor generation)
- ET AAS:** Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (electrothermal atomic absorption spectrometry)
- ETV:** Vaporização eletrotérmicas (electrothermal vaporization)
- FAAS:** Espectrometria de absorção atômica com chama (Flame Atomic Absorption Spectrometry)
- FI:** Sistema em fluxo (Flow Injection)
- FIA:** Análise por Injeção em Fluxo (Flow Injection Analysis)
- HG:** Geração de hidreto (Hydride generation)
- HPLC:** Cromatografia em fase Líquida de Alta Eficiência (High Performance Liquid Chromatography)
- INMETRO:** Instituto Nacional de Metrologia
- IC:** Cromatografia iônica (Ion Chromatography)
- ICP AES:** Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry)
- ICP-MS:** Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)
- ICP OES:** Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (inductively coupled plasma optical emission spectrometry)
- LOD:** Limite de detecção (limit of detection)
- LOQ:** Limite de quantificação (limit of quantification)
- MAE:** Extração Assistida por Microondas (Microwave-Assisted Extraction)
- NAZ:** Zona Analítica Normal (Normal Analytical Zone)
- RF:** Radiofrequência
- RSD:** Desvio Padrão Relativo (Relative Standard Deviation)

## RESUMO

O desenvolvimento de metodologia analítica para a análise de especiação de elementos formadores de hidretos (As e Sb) e mercúrio em amostras ambientais e de alimentos por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com observação axial após geração de vapor químico em sistemas em fluxo (CVG-FI-ICP OES) é apresentado.

A análise de especiação de As e Sb inorgânico é baseada na reação para a formação de hidretos voláteis, cuja formação ocorre para ambas as espécies (III e V) preferencialmente a partir das espécies trivalentes. Com a otimização das condições experimentais, é possível a determinação da espécie trivalente na presença da pentavalente e para efetuar a determinação total (III e V), é necessário a pré-redução. Em relação ao mercúrio e ao metil-mercúrio (metil-Hg<sup>+</sup>), a análise de especiação é baseada na geração de vapor frio a partir da redução de Hg(II) a Hg, sendo que a determinação do metil-Hg<sup>+</sup> por vapor frio só ocorre após liberação do Hg(II). As características de cada reação foram levadas em consideração no desenvolvimento dos métodos para análise de especiação.

Inicialmente, foram otimizadas as condições experimentais para a geração de hidretos por HG-FI-ICP OES com a finalidade de desenvolver um método com parâmetros analíticos adequados para a análise de especiação de Sb(III) e Sb(V) e As(III) e As(V). Os parâmetros otimizados foram: as concentrações de HCl e NaBH<sub>4</sub>, ácido cítrico e KI, potência da fonte de radiofrequência, vazão do gás de arraste e bobinas de reações empregando-se uma solução padrão. Com a otimização individual foi possível notar a similaridade dos métodos, o que permitiu desenvolver um método de especiação simultânea, sendo esse um relevante diferencial do trabalho em relação à literatura. Após o estudo de otimização foram avaliadas as figuras de mérito, com destaque ao limite de quantificação (LOQ) que variou de 0,18 a 0,59 µg L<sup>-1</sup>.

O desenvolvimento do método para a determinação total de Hg e análise de especiação de Hg(II) e metil-Hg<sup>+</sup> foi baseado no preparo da amostra seguido da quantificação por CV-FIA-ICP OES. O preparo da amostra foi otimizado e as condições avaliadas foram H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, temperatura, potência e tempo de ultrassom a partir de sonda ultrassônica. A quantificação de Hg(II) na presença de metil-Hg<sup>+</sup> permitiu confirmar que o metil-Hg<sup>+</sup> não foi decomposto, levando à recuperação de Hg(II) presente próximas de 100%, sendo possível a determinação total do mercúrio, Hg(II) e metil-Hg<sup>+</sup>. O estudo de recuperação permitiu avaliar a exatidão, com valores entre 97,8 e 102,1% com RSD máximo de 6,5%, indicando que o método para análise de especiação apresenta boa precisão e exatidão, permitindo inferir que o método proposto foi adequado para a análise de especiação de Hg(II) e metil-Hg<sup>+</sup>.

## ABSTRACT

The development of analytical methodology for the analysis of speciation of hydride forming elements (As and Sb) and mercury in environmental and food samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial observation after generation of chemical vapor in flow systems (CVG-FI-ICP OES) is presented.

The inorganic As and Sb speciation analysis is based on the reaction for the formation of volatile hydrides, the formation of which occurs for both species (III and V), preferably from the trivalent species. With the optimization of the experimental conditions, it is possible to determine the trivalent species in the presence of the pentavalent and to carry out the total determination (III and V), the pre-reduction is necessary. In relation to mercury and methyl-mercury (methyl-Hg<sup>+</sup>), the speciation analysis is based on the generation of cold vapor from the reduction of Hg(II) to Hg<sup>0</sup>, and the determination of methyl-Hg<sup>+</sup> occurs only after the release of Hg(II). The characteristics of each reaction were taken into account in the development of methods for speciation analysis.

Initially, the experimental conditions for the generation of hydrides by HG-FI-ICP OES were optimized with the aim of developing a method with analytical parameters suitable for the speciation analysis of Sb(III) and Sb(V) and As(III) and As(V). The optimized parameters were the concentrations of HCl and NaBH<sub>4</sub>, citric acid and KI, radiofrequency source power, carrier gas flow and reaction coils using a standard solution. With the individual optimization it was possible to notice the similarity of the methods, which allowed the development of a simultaneous speciation method, which is a relevant differential in this work in comparison to the literature. After the optimization study, the figures of merit were evaluated, with emphasis on the quantification limit (LOQ), ranging from 0.18 to 0.59 µg L<sup>-1</sup>.

The development of the method for total Hg determination and Hg (II) and methyl-Hg<sup>+</sup> speciation analysis was based on sample preparation followed by quantification by CV-FIA-ICP OES. The preparation of the sample was optimized and the conditions evaluated were H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, temperature, power and time of ultrasound from the ultrasonic probe. The concentration of Hg(II) in the presence of methyl-Hg<sup>+</sup> allowed to confirm that the methyl-Hg<sup>+</sup> was not decomposed, leading to the recovery of Hg (II) present near 100%, being possible the total determination of mercury, and methyl-Hg<sup>+</sup>. The recovery study allowed to evaluate the accuracy, with values between 97.8 and 102.1% with maximum RSD of 6.5%, indicating that the method for analysis of speciation presents good precision and accuracy, allowing to infer that the proposed method was suitable for the speciation analysis of Hg(II) and methyl-Hg<sup>+</sup>.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Contaminantes

Devido ao constante crescimento das atividades industriais que, associado ao consumo, produção e exploração de matérias-primas em busca de melhor qualidade de vida, vem aumentando a geração de efluentes contaminados por substâncias químicas como íons metálicos, compostos orgânicos e sintéticos. Esses efluentes podem ocasionar poluição ambiental, resultando no comprometimento dos sistemas hídricos e outros ecossistemas (ÖZCAN *et al.*, 2005; ROSA *et al.*, 2012).

O termo poluição é definido como a degradação da qualidade ambiental resultante de ações que prejudiquem, direta ou indiretamente, a saúde, a segurança e o bem-estar da população; que crie condição adversa às atividades sociais e econômicas; que afete desfavoravelmente a biota; que afete as condições estéticas e sanitárias e que ocasione o descarte de material ou energia em desacordo com os padrões ambientais (ROSA *et al.*, 2012). A degradação pode ser ocasionada por qualquer alteração química, física ou biológica que produza uma modificação no ciclo biológico, interferindo na fauna ou flora do meio. Dentre as várias formas de poluição, destaca-se a de ambientes aquáticos, as quais podem provocar alterações nas características da água, impossibilitando o seu consumo e a sua utilização em diversas atividades (AGUIAR *et al.*, 2002).

A poluição aquática pode ser classificada como térmica, sedimentar, biológica, radioativa e química. A poluição química, com destaque neste trabalho, pode ser provocada pelo descarte de material biodegradável ou persistente que, por sua vez, é caracterizado por não sofrer degradação biológica ou química, situação em que se encontram as espécies inorgânicas (TARLEY e ARRUDA, 2003; ROSA *et al.*, 2012).

Outra grande preocupação em relação às espécies inorgânicas, que são poluentes comuns resultantes do descarte nos diversos compartimentos ambientais de resíduos de atividades domésticas, como é o caso de chumbo, mercúrio, arsênio, cádmio entre outros, é a emissão desordenada desses elementos visto que eles, ainda que em pequenas quantidades, podem ser acumulados em reservatórios naturais (ALBERTINI *et al.*, 2007; ROSA *et al.*, 2012; PALANQUES *et al.*, 2016). Além disso, há o fato de muitas vezes não serem essenciais – que podem afetar a biodiversidade do ecossistema, eliminar espécies nativas sensíveis ou reduzir a abundância de espécies por imparidade reprodutiva e aumento da incidência de doenças – e, quando o são, apresentam-se apenas em baixas concentrações, como é o caso do selênio (OEHME e WOLFBEIS, 1997; SANTOS JR. *et al.*, 2002; JANEGITZ *et al.*, 2007; KIBRIA *et al.*, 2016). Isso implica em uma grande relevância na determinação dessas espécies em diferentes matrizes,

principalmente devido à necessidade do monitoramento da contaminação ambiental e também no que se refere à saúde humana.

O descarte dessas espécies no meio ambiente é proveniente das mais diferentes fontes nas quais se enquadram a maioria das atividades econômicas, além de fontes naturais. Esses elementos podem ser liberados ou transportados por ambientes aquáticos e/ou terrestres, principalmente sob sua forma dissolvida ou particulada (TOREM e CASQUEIRA, 2003; ROSA *et al.*, 2012).

No ambiente aquático, as espécies inorgânicas são encontradas nas mais diferentes formas: *i*) em solução na forma iônica; *ii*) na forma de complexos solúveis orgânicos e inorgânicos; *iii*) na forma de hidróxidos, óxidos hidratados ou sulfetos; *iv*) retidas em partículas coloidais minerais ou orgânicas; *v*) retidas junto ao sedimento ou incorporadas à biota (AGUIAR *et al.*, 2002).

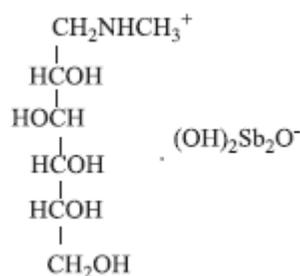
As diferentes formas químicas em que os elementos podem ser encontrados, ou seja, a especiação de cada elemento pode alterar os efeitos destes, sejam eles tóxicos ou biológicos. Essas características mostram a importância de se obter informações sobre a especiação de cada elemento, visto que na maioria dos casos a toxicidade é mais dependente da forma química do que da concentração total do elemento (LI *et al.*, 2008). Alguns elementos apresentam certas particularidades, especialmente no que diz respeito à toxicidade de um dado estado de oxidação, o que justifica a necessidade do desenvolvimento de protocolos analíticos devidamente validados. Em decorrência disso, segue uma breve descrição das características e informações sobre alguns destes elementos de interesse no presente estudo.

### **1.1.1. Antimônio**

O antimônio é um elemento que ocorre naturalmente, sendo encontrado em águas naturais em baixas concentrações ( $1 \mu\text{g L}^{-1}$ ), exceto em águas geotérmicas e áreas ricas em antimônio. Pode existir em vários estados de oxidação (-III, 0, III e V), além de poder estar associado a compostos orgânicos ou coloides. Entretanto, em amostras biológicas e ambientais, é encontrado principalmente nos estados III e V e, em águas marinhas, do antimônio total dissolvido a espécie predominante é o metilantimônio (ZHENG *et al.*, 2000; FILELLA *et al.*, 2002; FAN 2007; FILELLA *et al.*, 2007).

O antimônio não é considerado um elemento essencial para as plantas ou animais, mas apresenta toxicidade quando em elevadas concentrações para a maioria dos organismos vivos. Devido a sua biodisponibilidade, os efeitos toxicológicos e biológicos dependem de sua especiação, sendo que os compostos de Sb(III) são geralmente mais tóxicos que Sb(V) (FLORES *et al.*, 2002; FILELLA *et al.*, 2007).

O antimônio tem ainda uma importante utilização na medicina; suas utilizações medicinais datam desde a antiguidade, com destaque a partir de 1912, quando passou a ser empregado no tratamento de *leishmaniose* e, posteriormente, de esquistossomose. A *leishmaniose* afeta mais de 12 milhões de pessoas em diversas partes do mundo, com destaque aos países de clima tropical como Ásia, África, América Sul e Central (RATH *et al.*, 1997; RATH *et al.*, 2003; TRIVELIN, *et al.*, 2006; ALMEIDA, *et al.*, 2007). Sua utilização inicial foi a partir do Sb(III); porém, devido aos efeitos tóxicos e colaterais indesejáveis associados ao emprego do tártaro emético - tais como intolerância gastrointestinal e efeitos cardiotoxicos -, os antimoniais III foram sendo substituídos por compostos V. No Brasil, o uso atual é a partir do antimoniato de metilglucamina (apresentado na Figura 1), sendo obtido do ácido antimônico e da N-metilglucamina (FLORES *et al.*, 2002; RATH *et al.*, 2003; DEMICHELI E FRÉZARD, 2005).



**Figura 1.** Estrutura química de antimoniato de metilglucamina empregado como droga em tratamentos de *Leishmaniose* (RATH *et al.*, 2003).

O mecanismo de ação do antimônio em drogas não é bem conhecido, porém duas propostas são relatadas na literatura. No primeiro mecanismo, o Sb(V) atua como uma pró-droga, sendo biorreduzido por tióis a Sb(III) no organismo hospedeiro, na qual o Sb(III) seria a forma ativa e tóxica do antimônio (DEMICHELI E FRÉZARD, 2005; SÉBY *et al.*, 2012). Apesar do efeito ocorrer após a conversão para a espécie trivalente, o Sb(III) residual em drogas antimoniais pentavalentes não parece contribuir de forma significativa para a sua atividade leishmanicida, mas é responsável pela sua atividade citotóxica contra células do hospedeiro (SÉBY *et al.*, 2012)

Como pode ser observado, a determinação total do antimônio não fornece informações suficientes para se compreender sua toxicidade, biodisponibilidade e biotransformação (GARBÓS *et al.*, 2000; FAN 2007; FILELLA *et al.*, 2007), que são importantes para o estudo de especiação desse elemento (HANSEN *et al.*, 2011). Ainda devido à utilização de compostos de antimônio no tratamento de doenças, é importante o desenvolvimento de métodos para especiação também para o controle de qualidade dessas drogas.

O antimônio é também utilizado em outros seguimentos, pelos quais os seres humanos são amplamente expostos à esse elemento e seus compostos a partir de

retardantes de chama, materiais de liga, eletrônica, vidro, cerâmica, catalisadores de polimerização (JIANG, *et al.*, 2010; WEN *et al.*, 2017).

O processo mais comum para a fabricação de polietileno tereftalato (PET) no mundo, envolve a policondensação de tereftalato de dimetilo e etileno glicol, e utilizando o trióxido de antimônio (JIANG, *et al.*, 2010; SAX, 2010; CHAPA-MARTÍNEZ, *et al.*, 2016). A utilização deste catalisador pode levar a um teor residual de antimônio (Sb) no PET entre 100 e 300 mg / kg (CHAPA-MARTÍNEZ, *et al.*, 2016). Portanto, há um grande risco de lixiviação de Sb deste material de embalagem em bebidas (SAX, 2010; CHAPA-MARTÍNEZ, *et al.*, 2016).

O antimônio geralmente não é facilmente mobilizado no ambiente, mesmo em locais de fundição em que apresentam altas concentrações de Sb no solo, também tem sido relatada a baixa biodisponibilidade de Sb em solos, plantas, invertebrados e pequenos mamíferos (FU *et al.*, 2010). Os fatores de concentração biológica (uma razão entre as concentrações de elementos no organismo e a fonte de exposição) variaram apenas de 0,003 a 0,34 em áreas de fundição e mineração, as quais apresentam elevada concentração desse elemento (TELFORD *et al.*, 2009; FU *et al.*, 2010). No entanto, concentrações elevadas de Sb são encontradas em macroinvertebrados do nível trófico superior de um ecossistema aquático contaminado pela atividade de mineração, especialmente as espécies solúveis, Sb e metilantimônio (ANDREAE *et al.*, 1981; FU *et al.*, 2010).

Apesar da distribuição do antimônio e de suas diferentes formas químicas no ambiente terrestre e aquático ter uma forte influência na sua absorção, a biodisponibilidade e acumulação de Sb em ambientes aquáticos permanecem obscuras e é necessária uma investigação mais aprofundada para uma melhor compreensão do comportamento do Sb nos ecossistemas aquáticos (FU *et al.*, 2010), o que confirma a importância de estudos envolvendo esse elemento.

### **1.1.2. Arsênio**

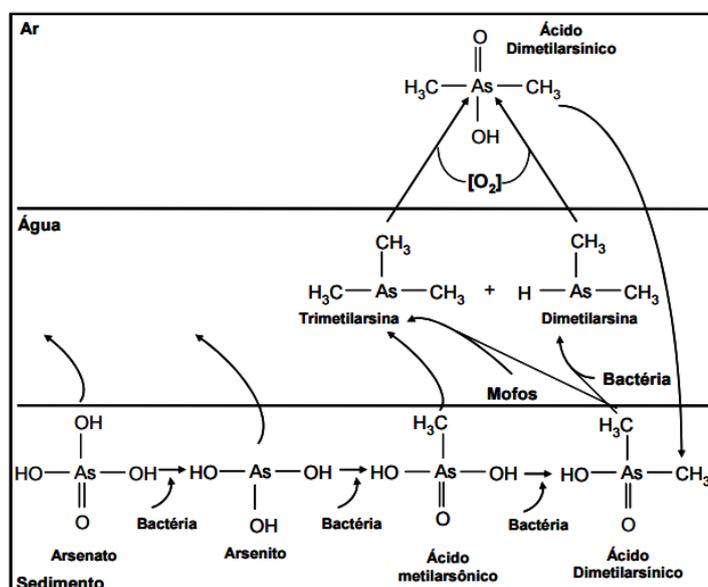
O arsênio é um elemento onipresente, estando amplamente distribuído no meio ambiente em rochas e solos, o qual resiste ao longo dos anos e está associado a minérios de sulfeto e óxido de manganês ou ferro. Uma parte dele está fortemente ligada aos constituintes do solo e só pode ser liberada sob condições drásticas. Porém, há outra fração do arsênio que está associada ao solo e é altamente móvel. Devido ao intemperismo e a lixiviação, ocorre a dissolução do arsênio, ocasionando contaminação de compartimentos aquáticos. O arsênio em águas naturais ocorre, principalmente, nas formas inorgânicas e nos estados de oxidação trivalente (arsenito,  $\text{AsO}_3^{3-}$ , As(III)) e

pentavalente (arsenato  $\text{AsO}_4^{3-}$ , As(V)) (BISSEN E FRIMMEL, 2000; LENOBLE *et al.*, 2003; ULUSOY *et al.*, 2011). Outra fonte de arsênio está associada a atividades antropogênicas tais como em aplicações agrícolas, nas quais é amplamente utilizado na formulação de herbicidas, pesticidas e fungicidas, em indústrias de vidro, na medicina e na produção de pigmentos, tintas anti-incrustantes, têxteis e em curtumes (BISSEN E FRIMMEL, 2000; LENOBLE *et al.*, 2003).

A distribuição das espécies no ambiente pode ser observada no ciclo biogeoquímico apresentado na Figura 2; em ambiente natural ocorre principalmente como o arsenito ( $\text{H}_3\text{AsO}_3$ ) e arseniato ( $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{HAsO}_4^{2-}$ ). A complexação de arsênio (III e V) por matéria orgânica dissolvida em ambientes naturais impede sorção e coprecipitação com compostos orgânicos e inorgânicos de fase sólida, aumentando a mobilidade do arsênio em sistemas aquáticos e no solo (BISSEN E FRIMMEL, 2003, YARON *et al.*, 2012).

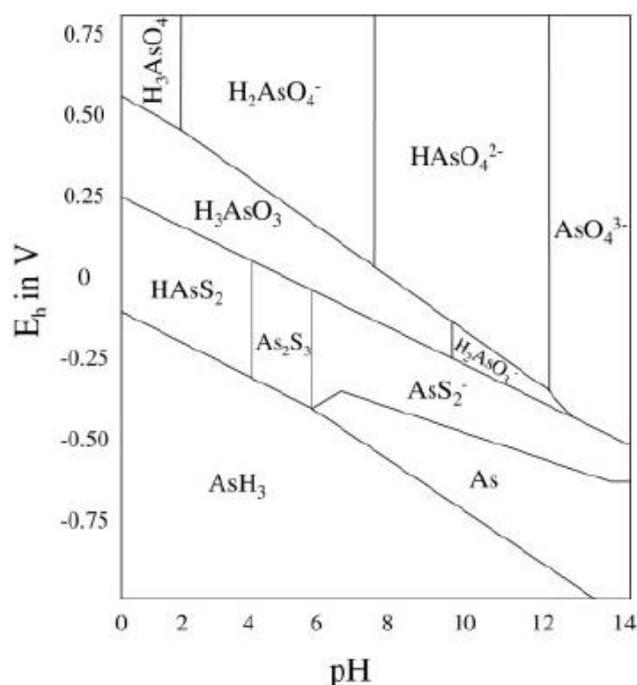
Devido à ação bacteriana sobre o arsênio inorgânico, os grupos hidroxilas podem ser substituídos por grupos metilas, gerando metilarsenato ( $\text{CH}_3\text{AsO}_3^{2-}$ ) e dimetilarsenato ( $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2^-$ ), os quais também são encontradas nos solos. A biometilação ocorre em suspensões contendo As(III), As(V), MMA e DMA a pH 6,5 e pH 8,0. Em pH inferior a 5,0, o processo de biometilação diminui drasticamente (BISSEN E FRIMMEL, 2003, YARON *et al.*, 2012).

O processo de metilação é importante devido à transferência de arsênio dos sedimentos para a coluna de água em sistemas aquáticos, aumentando a mobilidade do arsênio no ambiente. A biotransformação de arsênio também pode produzir compostos altamente voláteis, tais como arsina ( $\text{AsH}_3$ ), dimetilarsina ( $\text{HAs}(\text{CH}_3)_2$ ) e trimetilarsina ( $\text{As}(\text{CH}_3)_3$ ) (YARON *et al.*, 2012).



**Figura 2.** Ciclo biogeoquímico do arsênio (Adaptado de YARON *et al.*, 2012).

A estabilidade termodinâmica das espécies no ambiente aquático é dependente do potencial redox e pH, conforme pode ser observado na Figura 3. No diagrama é possível observar que, em um ambiente aeróbio, o arsênio encontra-se como As(V), aparecendo como  $\text{H}_3\text{AsO}_4$  em valores de pH inferiores a 3; no intervalo de pH de 2 a 11, o  $\text{H}_3\text{AsO}_4$  dissocia para  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  e  $\text{HAsO}_4^{2-}$ . Em valores relativamente menores de Eh, prevalece o arsênio As(III) como  $\text{H}_3\text{AsO}_3$ , sendo que até pH próximo de 10 o  $\text{H}_3\text{AsO}_3$  não se dissocia; acima desse valor aparece como  $\text{H}_2\text{AsO}_3^-$ ,  $\text{HAsO}_3^{2-}$  e  $\text{AsO}_3^{3-}$  (BISSEN E FRIMMEL, 2003).



**Figura 3.** Diagrama Eh-pH de arsênio em sistemas As-O<sub>2</sub>-S-H<sub>2</sub>O, sem a presença de microrganismos (BISSEN E FRIMMEL, 2003).

O arsênio está presente em níveis de ultratraços ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) e sua função bioquímica específica não é totalmente bem definida. Algumas evidências circunstanciais sugerem que esse elemento poderia desempenhar um papel essencial nos seres humanos e essa observação está relacionada ao fato de que uma redução na concentração de arsênio no soro sanguíneo tem sido correlacionada com lesões no sistema nervoso central, doenças vasculares e do cancro (DELGADO-ANDRADE *et al.*, 2003; PIZARRO *et al.*, 2003). Por outro lado, a maioria dos estudos relatam o potencial tóxico e carcinogênico desse elemento; quando há intoxicações agudas e crônicas ocorre perturbação respiratória, gastrointestinal, hiperqueratos, conjuntivite, hiperpigmentação, doenças cardiovasculares, distúrbios nos sistemas vasculares periféricos e no sistema nervoso central. Seu caráter carcinogênico está associado a casos de câncer de pulmão, bexiga, fígado, rim e pele (DELGADO-ANDRADE *et al.*, 2003; TUZEN *et al.*, 2009; TOLEDO *et al.*, 2011).

O caráter tóxico do arsênio está fortemente associado à especiação desse composto, sendo que espécies inorgânicas são mais tóxicas que as espécies orgânicas- o As(III) é muito mais tóxico que o As(V). O As(V) pode substituir o fosfato em várias reações bioquímicas, já o As(III) pode reagir com tióis críticos em proteínas e inibir suas atividades (LI *et al.*, 2009; TUZEN *et al.*, 2009). Devido a isso é importante e necessária sua determinação e especiação em diferentes compartimentos ambientais, principalmente em águas potáveis.

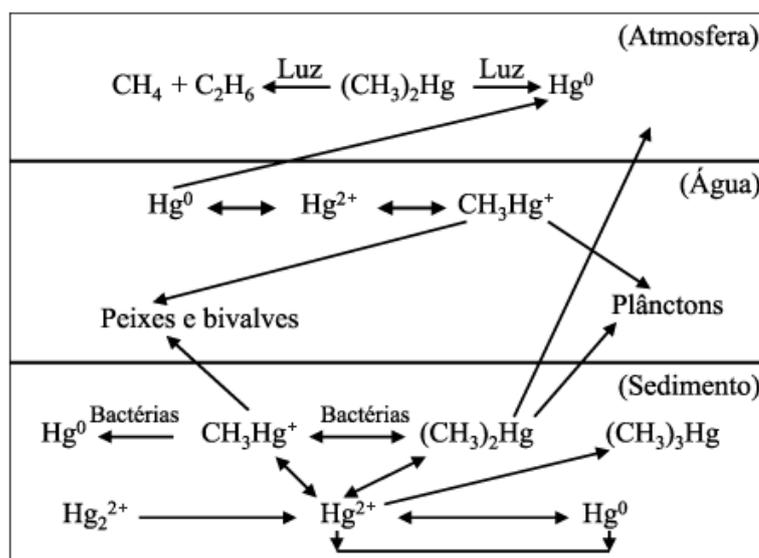
### 1.1.3. Mercúrio

O mercúrio vem sendo utilizado comercialmente e clinicamente há séculos. No passado foi muito aplicado em medicamentos, principalmente em tratamentos de sífilis, quando foi considerado um marco para a época (CLARKSON *et al.*, 2003; SARTIN E PERRY, 1995). A utilização do mercúrio no tratamento de doenças venéreas iniciou-se entre os séculos XV e XVI (SARTIN E PERRY, 1995), sendo ainda muito citada em teses de medicina no início do XX, com destaque às teses de Queiroz (1903), utilizando injeção de diferentes sais de Hg(I) e Hg(II), e ao trabalho de Silva (1908), baseado no emprego de bi-brometo de mercúrio, sendo ambos os trabalhos apresentados à Escola Médico-Cirúrgica do Porto e direcionados ao tratamento de sífilis.

Entre as atividades antrópicas que utilizam o mercúrio estão indústrias que realizam a queima de combustíveis fósseis, as de produção eletrolítica de cloro-soda, as de produção de acetaldeído, as de incineração de lixo, de polpa de papel, de tintas, de pesticidas, de lâmpadas fluorescentes, as de produtos odontológicos e também é usado na recuperação artesanal de ouro (MICARONI *et al.*, 2000; MELAMED e LUZ 2006). O grande número de aplicações do mercúrio ocorre devido às inúmeras propriedades características por ser um metal líquido sob temperatura ambiente. Dentre tais características, pode-se citar: expansão volumétrica uniforme em ampla faixa de temperatura, alta tensão superficial, baixa resistência elétrica, alta condutividade térmica, alto potencial de oxidação em relação ao hidrogênio e facilidade de formação de amálgama (MICARONI *et al.*, 2000).

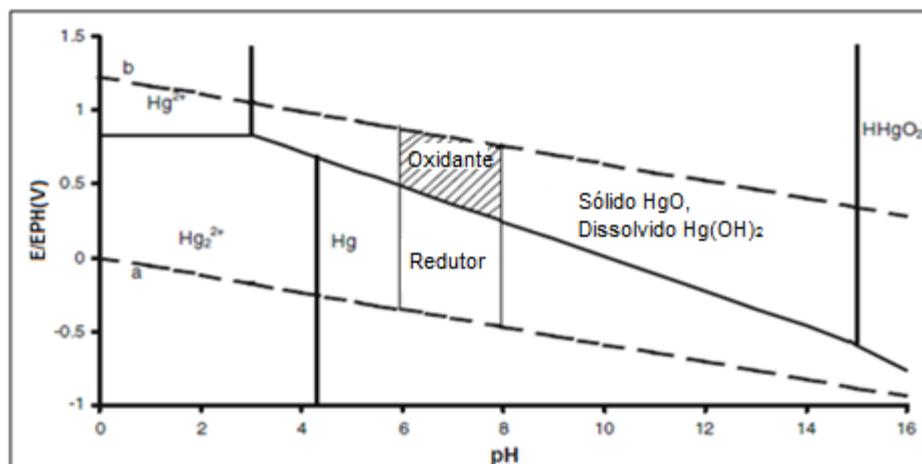
No meio ambiente, o mercúrio é encontrado em associação a outros elementos, sendo o enxofre o mais comum, com o qual forma o minério cinabre (HgS). O mercúrio também é encontrado em outras fontes naturais, como em erupções vulcânicas, na evaporação natural e em minas de mercúrio (MICARONI *et al.*, 2000) e ainda pode estar presente nos diferentes compartimentos ambientais e em diferentes formas, seja orgânica ou inorgânica (MICARONI *et al.*, 2000; BRIGATTI *et al.*, 2005).

Em sua forma inorgânica pode estar em três estados de oxidação, que são o mercúrio elementar (Hg) - encontrado principalmente na forma de gás-, íon mercúrio I ( $\text{Hg}_2^{2+}$ )- forma pouco estável em ambientes naturais- e como íon mercúrio II ( $\text{Hg}^{2+}$ ). Em sua forma orgânica, o mercúrio II apresenta-se ligado de maneira covalente a radicais orgânicos, merecendo destaque o metilmercúrio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) e o dimetilmercúrio ( $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ ) (MICARONI *et al.*, 2000; BRIGATTI *et al.*, 2005). A distribuição das espécies de mercúrio no ambiente aquático é regulada por diferentes processos, sendo eles físicos, químicos e biológicos, caracterizando o ciclo biogeoquímico desse elemento, observado na Figura 4.



**Figura 4.** Ciclo biogeoquímico do mercúrio no meio ambiente (BISINOTI e JARDIM, 2004).

A estabilidade termodinâmica das espécies no ambiente aquático é dependente do potencial redox e pH do meio, conforme pode ser observado pelo diagrama de equilíbrio E/pH (Figura 5). Em condições típicas de águas naturais (pH 6-8), observado pelas linhas verticais finas no diagrama, é dividida em duas regiões - oxidante (aeróbica) e redutora (anaeróbica). Na região oxidante é observada a predominância de  $\text{Hg}^{2+}$  na forma de  $\text{HgO}$  e  $\text{Hg}(\text{OH})_2$  dissolvido (KÓNYA E NAGY, 2011).



**Figura 5.** Diagrama de equilíbrio Eh/pH do mercúrio em sistemas aquáticos, sem a presença de microorganismos (Adaptado de KÓNYA E NAGY, 2011).

O mercúrio e seus compostos são poluentes ambientais potencialmente perigosos, podendo causar diversos danos significativos à saúde humana (LI *et al.*, 2008). A toxicidade do mercúrio está associada ao seu caráter cumulativo nos diferentes compartimentos ambientais, na biota e na cadeia alimentar (MELAMED e LUZ, 2005); essa toxicidade é variável entre as diferentes formas, sendo a forma orgânica extremamente tóxica não apenas aos seres humanos como também para toda a biota. Estudos indicam que o maior responsável por mortes não são as formas inorgânicas que o mercúrio apresenta, mas sim o metilmercúrio (MICARONI *et al.*, 2000; WASSERMAN *et al.*, 2001).

Devido a seu radical orgânico, o metilmercúrio pode entrar rapidamente na corrente sanguínea, causando danos irreparáveis ao sistema nervoso central. Os compostos orgânicos de mercúrio são lipossolúveis, facilitando sua passagem através dos tecidos; eles também podem ser absorvidos pela pele e aproximadamente 100% pelo trato gastrointestinal (MICARONI *et al.*, 2000).

O mercúrio pode ocasionar uma variedade de efeitos adversos, sendo os principais neurológicos e renais. No caso do sistema nervoso central, tem como principais sintomas: febre, tosse, fadiga, tremores, distúrbios digestivos e distúrbios nervosos, tais como ansiedade, cefaleia, depressão, letargia e perda de memória. Entre os outros efeitos possíveis, pode-se citar: câncer, problemas respiratórios, cardiovasculares, gastrointestinais e hepáticos, além de danos sobre a glândula tireoide, sistema reprodutivos, de desenvolvimento e genotoxicidade (BASTOS e LACERDA, 2004; LI *et al.*, 2008).

## 1.2. Legislações

A resolução nº 397, de 3 de abril de 2008 do CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA) estabelece condições e padrões para lançamento de efluentes

em corpos aquáticos. De acordo com essa resolução, a concentração máxima de arsênio e mercúrio total que pode estar presente em efluentes aquosos é de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente (CONAMA, 2008). O CONAMA também é o responsável por avaliar a qualidade das águas, seja para consumo ou outras atividades, bem como por classificá-las como águas doces, salinas e salobras, sendo estipulado conforme resolução nº 357 de 17 de março de 2005. A concentração máxima é de  $0,005 \text{ mg L}^{-1}$  de antimônio,  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  de arsênio e  $0,2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  de mercúrio para águas destinadas ao consumo humano após tratamento simplificado (águas doces, classe 1) (CONAMA, 2005).

A resolução 42 de 29 de agosto de 2013 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos em alimentos e, nesse contexto, estipula um teor máximo de arsênio em peixes de  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ , em cereais e derivados de  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$  e em vinho de  $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ ; já o mercúrio em pescada o teor máximo é de  $0,50$  a  $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$  (ANVISA, 2013). Já o Ministério da Saúde, de acordo com a portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011, estipula padrões de qualidade para a água potável com valor máximo permitido de antimônio, arsênio e selênio de  $0,005 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Com base nas concentrações estipuladas pelas normas citadas e, conseqüentemente, na elevada toxicidade dos elementos mencionados, pode-se inferir que as concentrações permitidas são relativamente elevadas frente a outros contaminantes como o mercúrio; além disso, considera-se apenas a concentração total para ambos os analitos neste estudo.

Como foi citado anteriormente, a toxicidade desses elementos varia de acordo com a forma química os quais se encontram e, apesar dessa constatação estar bem difundida no meio científico, nas legislações brasileiras pouco se relata essa diferença com base nas diferentes espécies que podem ser encontradas. De acordo com a nova resolução nº 430 de 13 de maio de 2011 do CONAMA, vêm sendo considerados novos padrões para o lançamento de efluentes em corpos receptores. São levados em consideração fatores como concentração do efluente no corpo receptor, vazões do efluente e do corpo receptor e diferenciação dos corpos receptores, como por exemplo, o caso de áreas marinhas, que levam em consideração estudos de dispersão física, a concentração letal mediana (CL50), o fator de toxicidade e, em alguns casos, a especiação de determinados elementos contaminantes, como é o caso do cromo tri e hexavalente (CONAMA, 2011).

Em virtude da elevada toxicidade, dos baixos níveis de concentração e da variedade dos elementos citados os quais podem ser encontrados em meio aquoso, estudos que buscam o desenvolvimento de métodos analíticos devidamente validados

para a quantificação e especiação em meio aquoso são de grande importância. Adicionalmente, tais métodos permitiriam auxiliar na busca de uma melhor compreensão dos efeitos das espécies em diferentes compartimentos ambientais, o que seria de grande valia.

### **1.3. Técnicas analíticas destinadas à quantificação**

Diversos métodos de quantificação de elementos em níveis de traços vêm sendo desenvolvidos e relatados na literatura (KOBAYASHI *et al.*, 2007; SMICHOWSKI E LONDONIO 2017). As técnicas comumente utilizadas nos métodos propostos para a determinação de elementos químicos são a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e a espectrometria de absorção atômica (AAS) (LI *et al.*, 2009). Porém, outras técnicas também se apresentam com detectabilidades adequadas para determinação de elementos traço, como é o caso da espectrometria de fluorescência atômica (AFS) (MOSCOSO-PÉREZ *et al.*, 2004) e da espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), sendo associadas à geração química de vapor ou ainda vaporização eletrotérmica (FENG e FU, 1998; POHL e ZYRNICKI, 2002; VIEIRA *et al.*, 2005; SUN *et al.*, 2007; BENZO *et al.*, 2011).

#### **1.3.1. Aspectos básicos da técnica espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)**

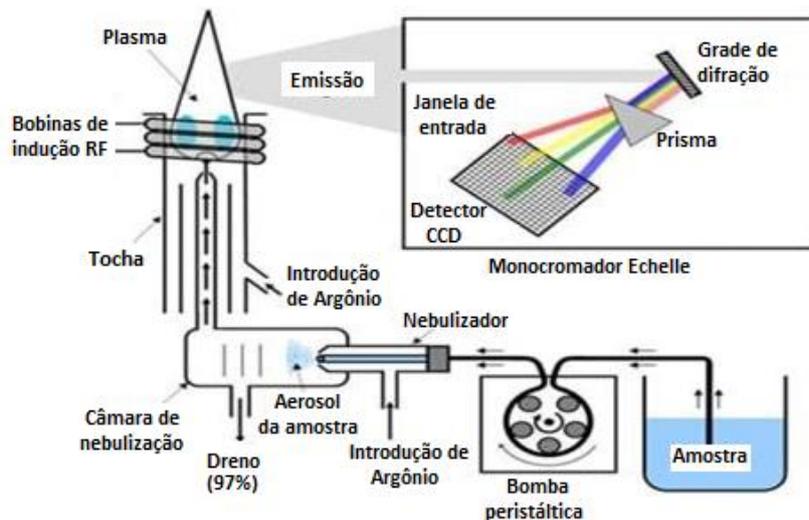
A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado- ICP OES- é uma poderosa técnica analítica baseada nos espectros de emissão óptica que pode ser utilizada para determinação de rotina de 70 elementos com limites de detecção (LOD) na faixa de  $\mu\text{g L}^{-1}$  (BOSS E FREDEEN, 2005).

As principais vantagens do ICP OES, em geral, são a sua capacidade de determinação multielementar, o maior intervalo dinâmico e linear e a menor interferência da fase condensada. Além disso, os casos dos elementos de formação de compostos refratários, tais como elementos I, P e S, são detectados com maior sensibilidade (BOSS E FREDEEN, 2005; THOMPSON E WALSH, 1989).

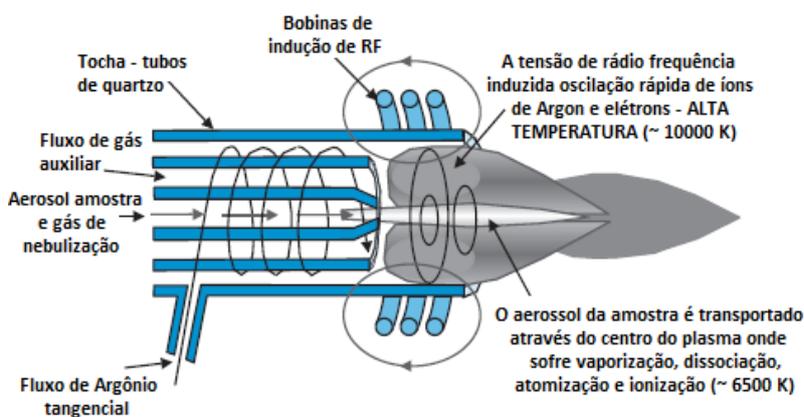
No ICP OES, a amostra é geralmente transportada para o instrumento como uma corrente de amostra líquida e é convertida em um aerossol por meio de um processo conhecido como nebulização. A amostra na forma de aerossol é então transportada para o plasma, no qual a alta temperatura provoca a vaporização seguida da volatilização, atomização, excitação e / ou ionização pelo plasma. O mecanismo de excitação ocorre por colisão com os elétrons e íons do argônio. Os átomos ou íons excitados emitem uma

radiação característica, que é recolhida por um fotomultiplicador no espectrômetro. A radiação é detectada e transformada em sinais eletrônicos que são convertidos em informações de concentração para o analista. Uma representação da disposição típica de um instrumento ICP OES é apresentada na Figura 6 (BOSS E FREDEEN, 2005; THOMPSON E WALSH, 1989; GUINÉ, 1998).

A



B



**Figura 6.** Diagrama esquemático de um espectrômetro ICP OES (A) com observação radial (B).

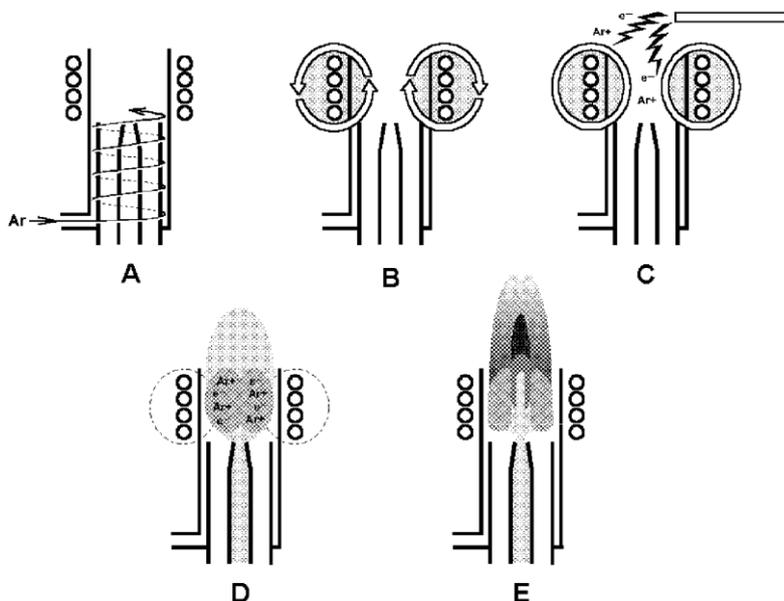
A fonte de plasma tem uma elevada estabilidade; além da capacidade de superar os efeitos de interferência causados pela formação de compostos estáveis, é capaz de excitar diversos elementos que não são excitados em chamas convencionais e de proporcionar um aumento da sensibilidade de detecção quando comparada com a fotometria de chama (THOMPSON E WALSH, 1989).

O plasma é um gás parcialmente ionizado, no qual coexistem elétrons livres, átomos e íons e é onde ocorre transferência de energia por radiação, condução e aquecimento Joule, entre outros. Para a formação do plasma, é necessário fornecer energia para produzir íons. O mecanismo de ionização pode ser térmico, por radiação ou

por descarga elétrica, sendo a última a mais comum, e dependente da produção de uma avalanche de elétrons (GUINÉ, 1998).

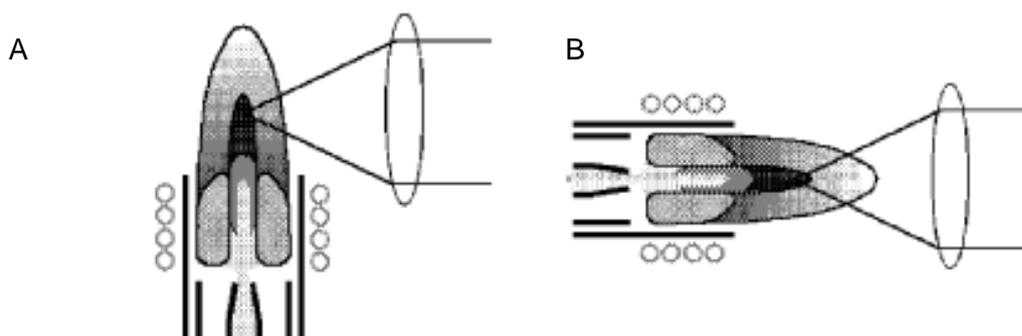
A descarga de plasma indutivamente acoplado utilizada hoje em espectrometria de emissão óptica é semelhante à descrita por Velmer Fassel (BOSS E FREDEEN, 2005). Nessa configuração, o gás argônio é dirigido através de uma tocha constituída por três tubos concêntricos feitos de quartzo com entradas independentes de gás. O fluxo de argônio que flui tangencialmente entre o tubo exterior e o intermediário é o gás refrigerante ou “gás do plasma” que atua para formar o plasma e prevenir o aquecimento excessivo da tocha. Uma bobina de cobre (bobina de indução) envolve a extremidade superior da tocha e é ligada a um gerador de frequência de rádio (RF). Quando a energia RF (tipicamente 700-1500 watts) é aplicada à bobina de indução, uma corrente alternada oscila a uma taxa que corresponde à frequência do gerador. Na maioria dos instrumentos ICP essa frequência é ou 27 ou 40 megahertz (MHz) (BOSS E FREDEEN, 2005).

Para iniciar o processo de formação do plasma, usa-se uma fonte de Tesla que proporciona descarga elétrica na região de entrada do argônio do plasma. Esses elétrons provocam as primeiras ionizações do argônio. Aumentando-se a energia na fonte de RF, os elétrons produzidos são acelerados pelo campo magnético, atingindo energia cinética elevada. Essa energia é transferida para outros átomos através de colisões, produzindo mais íons do gás e elétrons. A adição de energia para os elétrons através da utilização de uma bobina é conhecida como acoplamento indutivo (Figura 7) (BOSS E FREDEEN, 2005; GUINÉ, 1998).



**Figura 7.** Seção transversal de uma tocha, bobina de indução e seqüência para formação do plasma. A – O gás argônio é introduzido através da tocha; B - A energia de RF é aplicada à bobina de indução; C - É gerada uma descarga elétrica (Tesla) que produz alguns elétrons livres no argônio; D - Os elétrons livres são acelerados pelo campo de RF, causando mais ionização e formando o plasma; E - O fluxo de aerossol da amostra produzido no nebulizador é introduzido no interior do plasma (BOSS E FREDEEN, 2005).

A emissão de radiação a partir da região de plasma, conhecidos como a zona analítica normal (NAZ), é amostrada para a medição espectrométrica. Inicialmente, a zona analítica era a partir do lado do plasma operando no plano vertical. Essa visão é referida como radial, ou seja, o espectro é amostrado com um ângulo de  $90^\circ$  (GREENFIELD, JONES e BERRY, 1694; WENDT e FASSEL, 1965; BOSS E FREDEEN, 2005). No início da década de 1990, uma nova zona analítica para o ICP foi comercializada. O plasma é alterado para uma posição horizontal e a zona é observada a partir da extremidade do plasma. Essa configuração tornou-se conhecida como visão axial, a qual permite uma melhora de até cem vezes nos limites de detecção, refletindo no crescimento de aplicações, principalmente na área de ambiental. Recentemente, instrumentos combinam tanto a visão radial como a axial, também chamada dupla vista. Ambas as configurações são apresentadas na Figura 8 (NHAM, 1999; SILVA *et al.*, 2002; BOSS E FREDEEN, 2005).

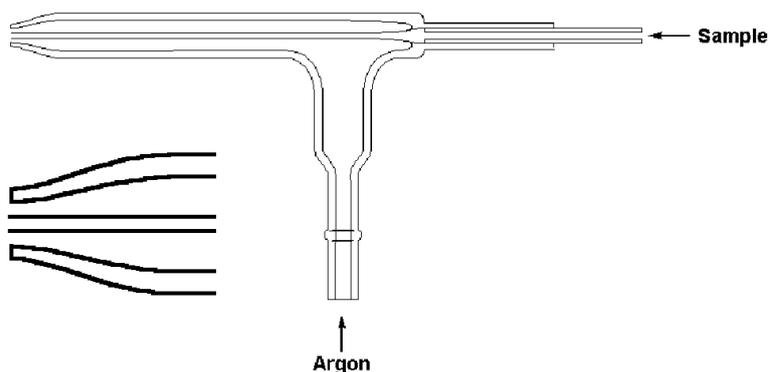


**Figura 8.** Plasma com visão radial (a) e visão axial (b) (BOSS E FREDEEN, 2005).

#### 1.3.1.1. Sistemas de introdução de amostras

A forma mais comum é a introdução de amostras líquidas ao plasma através da formação de aerossol em um nebulizador; é uma etapa crítica e, num sistema de introdução de amostras, o ideal seria aquele que fornece toda a amostra ao plasma, de modo que os processos de dessolvatação, vaporização, atomização e excitação ocorram de maneira reprodutiva (THOMPSON E WALSH, 1989; BOSS E FREDEEN, 2005; GUINÉ, 1998). A formação do aerossol, a seleção de uma porção homogênea de gotas e a condução para o plasma são de extrema importância para a obtenção de bons resultados. Dentre as propriedades do aerossol, são importantes: o tamanho e a distribuição das gotículas, as quantidades de amostra e solvente transferidas para o plasma e as flutuações do sistema de nebulização. A qualidade do aerossol produzido depende do nebulizador, enquanto que a seleção da parte do aerossol transferido para o plasma depende da câmara de nebulização. Diversos sistemas de nebulização instalados em câmaras de nebulização são descritos (SHARP, 1988; SCOTT, 1974; GUINÉ, 1998).

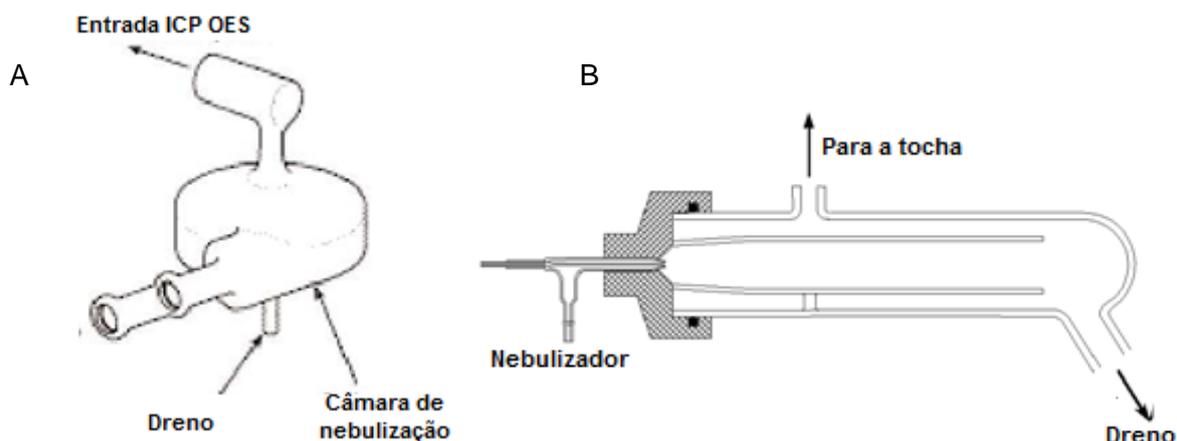
A maioria dos nebulizadores comerciais para o ICP OES são do tipo pneumático. Esses nebulizadores utilizam um fluxo de gás argônio de alta velocidade para criar um aerossol. Dentre os diversos modelos do mercado, o nebulizador concêntrico é o mais utilizado (Figura 9); nesse nebulizador, a solução é introduzida através de um tubo capilar para uma região de baixa pressão criada por um fluxo de gás, que é rapidamente passado à extremidade do capilar. O gás de baixa pressão e alta velocidade combinam para a produção do aerossol (BOSS E FREDEEN, 2005; SHARP, 1988).



**Figura 9.** Nebulizador pneumático concêntrico (BOSS E FREDEEN, 2005).

Com o pequeno orifício, esse modelo de nebulizador pode proporcionar uma adequada sensibilidade e estabilidade; porém está sujeito a problemas de entupimento, muitas vezes por soluções contendo 0,1% de sólidos dissolvidos (BOSS E FREDEEN, 2005).

Após passar pelo nebulizador, o aerossol segue para a câmara de nebulização, que tem como objetivo a remoção de grandes gotículas do aerossol; o tamanho ideal das gotículas é de 10  $\mu\text{m}$  (ou inferior) para ser completamente vaporizada. A câmara de nebulização também tem como finalidade suavizar impulsos que ocorrem durante a nebulização, muitas vezes devido a bombeamento da solução. Com os nebulizadores típicos, essa gama de gotículas constitui cerca de 1-5% da amostra que é introduzida no nebulizador; o restante da amostra é recolhido em um recipiente de resíduos. Dois modelos de câmara de nebulização são apresentados na Figura 10 (BOSS E FREDEEN, 2005; THOMPSON E WALSH, 1989; SHARP, 1988).



**Figura 10.** Tipos de câmaras de nebulização: ciclônica (A) e Scott (B) (BOSS E FREDEEN, 2005; PETRY, 2005).

Outros sistemas de introdução de amostras são compatíveis com o ICP OES, como a introdução de amostras sólidas ou gasosas, sendo que a obtenção de vapores de amostras pode ser alcançada por diferentes métodos, tais como a vaporização eletrotérmica ou a geração química de vapores (GUINÉ, 1998).

#### 1.3.1.1.1. Geração de Vapor Químico (CVG)

A introdução direta de amostras gasosas para o plasma indutivamente acoplado para análise química oferece uma variedade de vantagens sobre as técnicas convencionais de nebulização, sendo uma delas a capacidade de alcançar relativamente uma maior sensibilidade. A maior sensibilidade é, principalmente, o resultado da capacidade de atingir 100% de transporte de analitos para o plasma em comparação com cerca de 2-5%, que é geralmente o que é obtido para a introdução de amostras líquidas (THOMPSON E WALSH, 1989; TAYLOR, 2001).

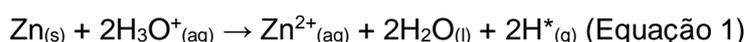
A aplicação da técnica de CVG é, normalmente, muito restrita; é frequentemente limitada a um único elemento ou, na melhor das hipóteses, a um pequeno grupo de elementos com propriedades físicas e químicas similares. Espécies químicas voláteis do analito são geradas por reações químicas como parte do processo de introdução da amostra; são estáveis à temperatura ambiente e facilmente transportadas para o plasma na corrente de injeção de amostra de Ar. Essa abordagem tem a vantagem adicional importante de remover simultaneamente componentes potencialmente interferentes a partir da matriz de amostra (THOMPSON E WALSH, 1989; TAYLOR, 2001).

A CVG converte alguns elementos em compostos voláteis através de uma reação da amostra em meio ácido com um reagente redutor, sendo o mais utilizado o  $\text{NaBH}_4$ , com o posterior transporte do vapor e quantificação (DEAN, 2005; DEDINA E TSALEV,

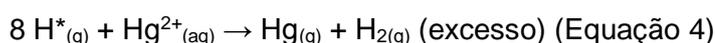
1995; TAKASE *et al.*, 2002; POHL, 2004). Dentre os elementos possíveis de serem determinados, estão o mercúrio e o cádmio por vapor frio, os quais formam átomos livres na temperatura ambiente; o antimônio, o arsênio, o bismuto, o germânio, o chumbo, o selênio, o telúrio, o estanho e o tálio por geração de hidretos. Para ambos os casos a metodologia para a CVG é muito semelhante (DEAN, 2005; THOMPSON E WALSH, 1989; WELZ E SPERLING, 1999). A CVG atualmente pode ser considerada como um dos procedimentos de derivatização mais populares, visando a determinação de diferentes elementos em ultratraços (D'ULIVO, 2004).

A geração de hidretos consiste de um método antigo, proposto inicialmente por Marsh, que sugeriu a determinação de arsênio usando esse procedimento; o ensaio de Gutzeit é uma simplificação do ensaio de Marsh. O ensaio de Gutzeit, envolve a formação de arsina gasosa por reação do As(III) com hidrogênio nascente sob a ação catalítica do zinco metálico, seguido pela reação da arsina formada com cloreto mercúrico, impregnado em papel de filtro (BOBBINS e CARUSO, 1979; PEREIRA *et al.*, 2002).

Na geração das espécies voláteis, diferentes reagentes foram sugeridos. Primeiramente foi utilizada a adição de um metal em pó à amostra ácida, gerando H<sub>2</sub> (Equação 1). Entretanto, esses sistemas redutores apresentavam várias limitações: aplicação apenas à geração de hidretos de As, Se e Sb; sinais analíticos das provas em brancos elevados; dificuldade em obter os metais com elevado grau de pureza e baixa reprodutibilidade (DEDINA E TSALEV, 1995; LAJUNEN E PERAMAKI, 2004; TAKASE *et al.*, 2002).



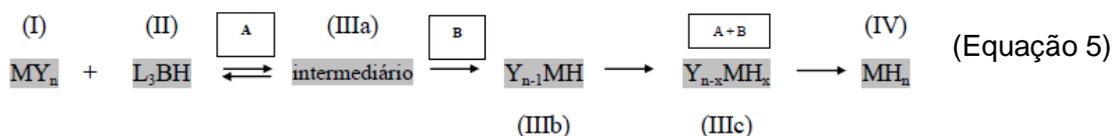
A utilização de soluções redutoras de tetrahidroborato de sódio (NaBH<sub>4</sub>) estabilizadas em meio alcalino vem se mostrando mais adequada, sendo a redução efetivada de acordo com as equações 2 a 4 (DEDINA E TSALEV, 1995; LAJUNEN E PERAMAKI, 2004; POHL, 2004; TAKASE *et al.*, 2002):



A equação 3 consiste na etapa de redução e produção do hidreto volátil e a equação 4 refere-se à redução do mercúrio a mercúrio elementar, etapa essa conhecida como geração de vapor frio.

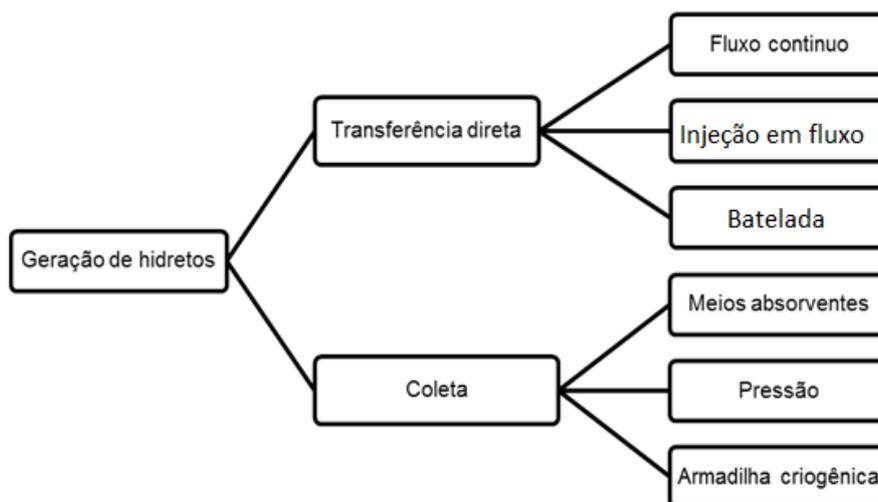
Uma segunda hipótese envolvendo o  $\text{NaBH}_4$  mostra que os hidretos são formados através de reações com intermediários do  $\text{BH}_4^-$ , conforme equação 5, que foi proposta com base em evidências experimentais e consiste em reações primárias e secundárias (D'ULIVO, 2004; D'ULIVO *et al.*, 2005).

A e B são reações primárias que levam à formação do hidreto. Em A, tem-se a formação de um intermediário de reação- IIIa-, o qual é um possível complexo do boro (borano) que contém o analito (M). Na reação B, ocorre a transferência do hidrogênio da espécie de boro para o analito. No reagente I, tem-se um complexo do analito (M) com espécies ligantes presentes na matriz da reação ( $Y = \text{H}_2\text{O}, \text{OH}^-, \text{Cl}^-$ , etc.), o qual reage com II, que são espécies que contêm o boro ligado a um hidrogênio e ligantes-  $\text{L}_3\text{BH}$  ( $L = \text{H}^-, \text{H}_2\text{O}, \text{OH}^-, \text{Cl}^-$ , etc.) - formados a partir da hidrólise do  $\text{BH}_4^-$  matriz de reação- e está presente em excesso em relação ao analito. A transferência direta de átomos do hidrogênio ligados ao boro para o analito ocorre através da reorganização do intermediário de reação- IIIa- levando à formação de um novo intermediário- IIIb- contendo um átomo de hidrogênio e substituindo o grupo ligante Y. Esse novo intermediário de reação passa pelas reações A e B formando um novo intermediário, IIIc, e assim sucessivamente até todos os ligantes originalmente ligados ao analito M serem substituídos pelo hidrogênio até obtenção do hidreto volátil IV (D'ULIVO *et al.*, 2005).



A utilização de solução de  $\text{NaBH}_4$  apresenta algumas vantagens, tais como maior eficiência, maior reprodutibilidade, cinética de reação mais definida, além de possibilitar a automação. Esse redutor é, hoje, o mais amplamente empregado para a geração de hidretos tanto para sistemas em batelada como por injeção em fluxo em qualquer que seja o método posterior de detecção. É importante para a sua utilização tanto uma prévia otimização da concentração da solução para o elemento de interesse como para o equipamento utilizado (TAKASE *et al.*, 2002).

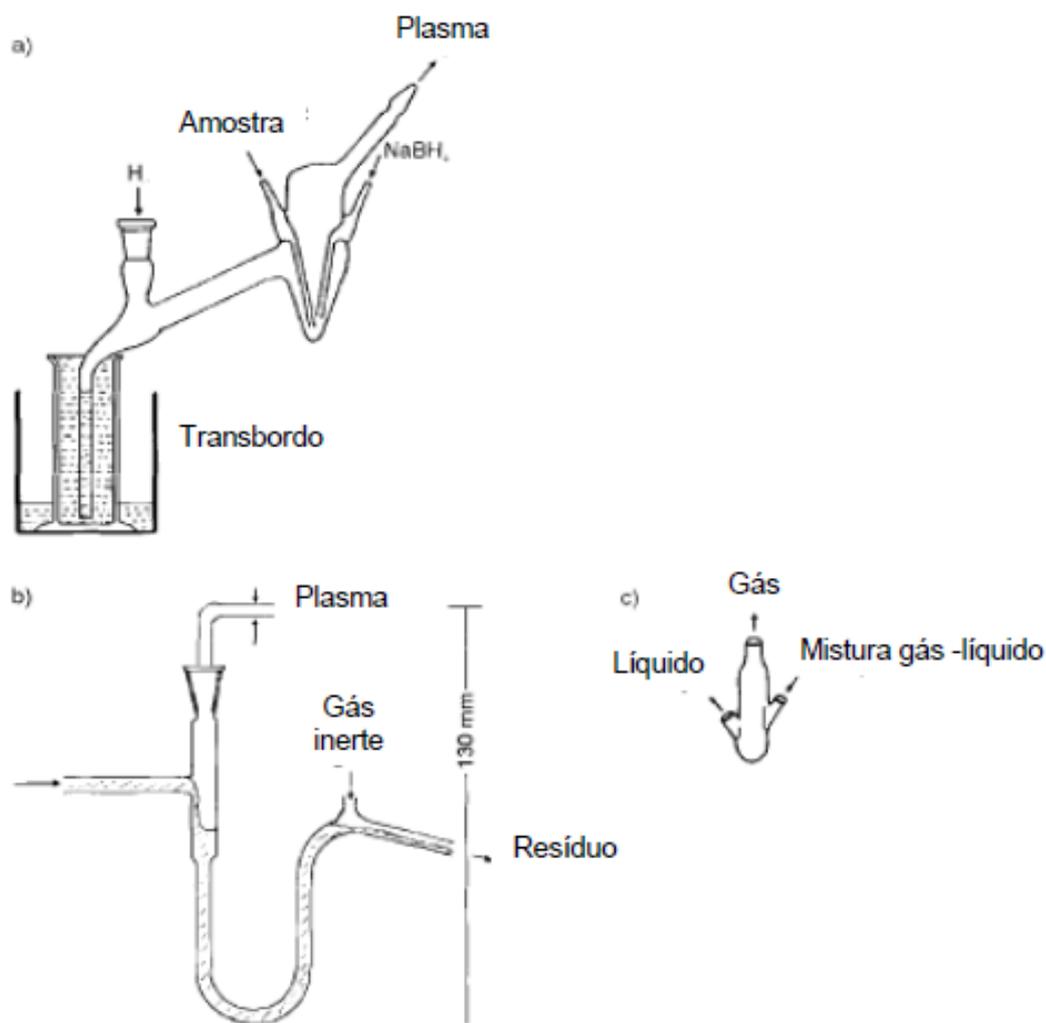
O transporte das espécies voláteis pode ocorrer de dois modos: coleta ou transporte direto, os quais apresentam diferentes configurações, conforme observado no esquema da Figura 11.



**Figura 11.** Métodos de geração de vapores (DEDINA E TSALEV, 1995).

No sistema de coleta, toda a amostra é reduzida em um gerador de hidretos/vapores e as espécies voláteis formadas são transportadas numa corrente de gás transportador para um dispositivo de detecção (LAJUNEN E PERAMAKI, 2004; TAKASE *et al.*, 2002). No modo de transporte direto, que é o mais utilizado, ocorre em sistema de fluxo contínuo (sistemas em fluxo contínuo ou análise por injeção em fluxo), no qual a amostra e outros reagentes são bombeados por bombas peristálticas separadamente e misturados continuamente numa junção em que as espécies voláteis são formadas. Os produtos de reação, gasosos e líquidos, são transportados com um fluxo de gás transportador para um separador de gás-líquido e a mistura de gás entra no atomizador (LAJUNEN E PERAMAKI, 2004; TAKASE *et al.*, 2002).

É de grande importância a utilização de um separador de fase adequado nos sistemas envolvendo sistemas em fluxo e diferentes tipos de separadores são propostos na literatura. É extremamente importante que o separador gás-líquido seja grande o suficiente para evitar que o líquido e a formação de espuma ao longo de gotículas da solução cheguem ao sistema de detecção. Por outro lado, deve ser pequeno de modo que a solução seja removida rapidamente e, acima de tudo, o volume morto deve ser tão pequeno quanto possível para garantir uma boa sensibilidade (LAJUNEN E PERAMAKI, 2004; WELZ E SPERLING, 1999). Diferentes separadores são apresentados na Figura 12, sendo que o da Figura 12c (membrana permeável ao gás) merece destaque, pois é um modelo semelhante ao utilizado neste trabalho; ele pode ser preenchido com pérolas de vidro para reduzir ainda mais o volume morto e provou ser particularmente adequado (WELZ E SPERLING, 1999). Neste separador, a mistura de reação e gás de arraste ocorre antes da entrada no separador (LAJUNEN E PERAMAKI, 2004).



**Figura 12.** Diferentes separadores gás-líquido. a -sistema de transbordo; b - separador de U-tubo; c -separador de fases para sistemas FI (Adaptado de WELZ E SPERLING, 1999).

As principais vantagens da CVG acoplada ao ICP OES são (LAJUNEN E PERAMAKI, 2004; TAKASE *et al.*, 2002):

- Separação prévia da matriz potencialmente interferente;
- Alta eficiência de introdução da amostra, podendo-se chegar a 100% e com um vapor homogêneo;
- A seletividade aumentada por causa da redução significativa dos interferentes;
- Obtenção de melhores LOD;
- Determinação simultânea dos analitos;
- Possibilidade de estudos de especiação.

A obtenção de melhores LODs está associada à maior introdução de amostra ao plasma e ao fato de que a energia normalmente necessária para o processo de dessolvatação e vaporização de um metal em uma amostra líquida está, portanto,

disponível no plasma para decomposição da espécie química volátil, melhorando a sensibilidade e o limite de detecção (LAJUNEN E PERAMAKI, 2004).

O sistema de CVG também apresenta algumas limitações, de acordo com a literatura (LAJUNEN E PERAMAKI, 2004; TAKASE *et al.*, 2002):

- A cinética de geração do vapor pode ser afetada por fatores físicos associados à solução, tais como viscosidade e densidade;
- O pH e as concentrações dos reagentes podem ser críticos para alguns elementos;
- Os estados de oxidação ou a forma química do analito são críticos;
- A suscetibilidade a interferências por concomitantes existentes na solução para determinação espectrométrica que possam impedir a reação de geração de vapor ou sua purga eficiente da solução.

#### **1.3.1.2. Interferências**

As interferências possíveis para ICP OES são classificadas em “espectrais” e “não espectrais” (BOOS E FREDEEN, 1997; THOMPSON, 1989). Interferências espectrais (também conhecidos como interferências de fundo) encontrados na ICP OES podem ser separadas em quatro categorias diferentes, sendo elas deslocamento simples da radiação de fundo (background), alteração da radiação da linha base próximo da linha do elemento de interesse, sobreposição espectral total ou parcial e radiação de fundo complexa (BOOS E FREDEEN, 1997).

As interferências podem ser ocasionadas por situações distintas; para eliminar ou corrigir essas interferências, diferentes procedimentos podem ser adotados, tais como separação química do elemento interferente, escolha de um comprimento de onda alternativo ou ainda correções matemáticas (BOOS E FREDEEN, 1997).

Existe um quinto tipo de "interferência" espectral, mesmo que não atenda à definição para esse tipo interferência e que ocorre por ser a mesma para ambos os padrões e amostras: é a interferência de absorção, a qual surge quando parte da emissão de um analito é absorvida antes de atingir o detector. Essa interferência apresenta duas causas possíveis: a primeira ocorre abaixo de 190 nm devido à presença de oxigênio em espectrômetros sem vácuo ou não purgados; a segunda quando a concentração elevada de um elemento provoca uma elevada emissão e os átomos ou íons desse elemento -os quais estão no estado transição de energia mais baixa que a de interesse -absorvem quantidades significativas de radiação emitida pelos átomos ou íons excitados. Esse segundo efeito é conhecido como autoabsorção e geralmente determina

o limite superior da faixa linear de trabalho. Linhas de emissão e intervalos de trabalho devem ser escolhidas para evitar essas interferências de absorção (BOOS E FREDEEN, 1997).

As interferências não espectrais podem ser identificadas através de uma mudança na inclinação da curva analítica pela presença da matriz (efeito de matriz). Estão associados ao transporte, nebulização e condições de excitação da amostra no plasma. Essas interferências podem ser minimizadas por diferentes abordagens (GUINÉ, 1998):

- Uso da matriz para o preparo da amostra que contenha matrizes constantes, mantendo a solução padrão com as características mais próximas da amostra;
- Procedimentos que envolvam a separação de matriz para situações de baixa concentração do analito;
- Utilização de padrão interno, que deve ser um elemento que não esteja presente na amostra, além de análise prévia da amostra sem a adição;
- Métodos envolvendo adição de padrão; nesse caso é analisada a amostra antes e depois da adição do elemento de interesse em concentração conhecida;
- Diluição da amostra para os casos envolvendo elevada quantidade de sólidos-acima de 5%;
- Uso de maiores valores de potência de RF associados a uma mistura de gás argônio e oxigênio para a nebulização em amostras com elevada quantidade de matéria orgânica.

#### **1.4. Análise de Especificação**

Com frequência, são utilizados métodos analíticos para a quantificação de elementos, principalmente quando o objetivo do desenvolvimento é de determinar a concentração total deles. No entanto, cada vez mais vem sendo reconhecida a importância da obtenção de informações sobre as formas físico-químicas dos elementos, necessárias para compreender a reação de diversos elementos, como por exemplo em processos ambientais (LUND, 1990).

A especificação de um elemento foi apresentada inicialmente por Florence - 1982 - como a determinação das concentrações das formas físico-químicas individuais do elemento em uma amostra que, em conjunto, constituem a sua concentração total. As formas físico-químicas individuais incluem compostos gasosos, formas sólidas ou fases e formas dissolvidas, dependendo da natureza da amostra (FLORENCE, 1982; LOON E BAREFOOT, 1992).

O termo análise de especiação também foi recomendado pela IUPAC através do trabalho de TEMPLETON *et al.*, 2000, o qual define o termo em questão juntamente com outros como:

- Espécies químicas relacionadas com o elemento químico: forma específica de um elemento definido como a composição isotópica, estado eletrônico ou oxidação e / ou complexo ou estrutura molecular;
- Análise de especiação, sendo relacionado à química analítica: atividades de análise de identificação e/ou determinação das quantidades de uma ou mais espécies químicas individuais de um elemento químico numa amostra;
- Especiação de um elemento; especiação: Distribuição de um elemento entre espécies químicas definidas em um sistema;
- Fracionamento: Processo de classificação de um analito ou grupo de analitos a partir de uma determinada amostra, de acordo com as propriedades físicas (por exemplo: tamanho, solubilidade) ou químicas (por exemplo: ligação, reatividade).

Anteriormente, a determinação das concentrações totais de elementos era considerada suficiente para considerações clínicas e ambientais. Embora a concentração total de um elemento ainda seja útil e essencial em muitos esquemas de análise, a determinação individual das espécies é uma tarefa importante. A concentração de uma espécie tóxica é mais relevante no estabelecimento de normas ambientais e clínicas do que a concentração elementar total. Por isso, os químicos analíticos são confrontados com problemas muito difíceis na aquisição de dados precisos sobre espécies tóxicas (LOON E BAREFOOT, 1992). Em decorrência disso, é questão da maior relevância a determinação individual das espécies devido ao fato de que esse conhecimento pode ter implicações diretas ou indiretas com uma das questões mais relevantes da Química Ambiental moderna, que é a toxicologia humana ou ambiental, a qual se reflete em questões de saúde pública (MOZETO E JARDIM, 2002).

Os métodos desenvolvidos para a análise de especiação apresentam, dentre as técnicas mais empregadas, a cromatografia em fase líquida de alta eficiência (HPLC) (QIU *et al.*, 2006; DRESSLER *et al.*, 2011) e a cromatografia de íons (IC) (ZHANG e FRANKENBERGER Jr., 2001; MIEKELEY *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2008) que, quando acopladas às técnicas de quantificação como o ICP-MS apresentam muitas vantagens, tais como grande seletividade, faixa linear adequada e baixos limites de quantificação (QIU *et al.*, 2006; DRESSLER *et al.*, 2011).

Dentre os métodos não cromatográficos de separação utilizados em estudos de especiação, podem ser citados extração por solventes, coprecipitação, extração em ponto nuvem, extração em fase sólida; eles são combinados com diferentes técnicas de detecção, como ICP OES e ICP-MS, com destaque para as técnicas de Espectrometria

de Absorção Atômica por atomização em chama (FAAS) ou por atomização eletrotérmica (ETAAS) (NAJAFI *et al.*, 2010; LOPES-GARCIA *et al.*, 2017).

Métodos eletroanalíticos também apresentam potencial no estudo de especiação, dentre os quais merecem destaque estudos com o uso de eletrodos modificados (PUNRAT *et al.*, 2013), voltametria de redissolução anódica (PALDYNA *et al.*, 2013; PUNRAT *et al.*, 2013; SONG E SWAIN, 2007).

Diversos trabalhos apresentados na literatura vêm utilizando sistemas de geração química de vapor em estudos de especiação de diferentes espécies (ALONSO *et al.*, 2008; TUZEN *et al.*, 2009; MACEDO *et al.*, 2010; MARINS *et al.*, 2002; DIAZ-ALARCÓN *et al.*, 1996; FLORES *et al.*, 2002; SERAFIMOVSKI *et al.*, 2008). Para que seja possível, etapas prévias são agregadas ao método; ou seja, processos de redução, oxidação e mineralização são necessários, porém podem aumentar as possibilidades de contaminação ou perda do analito (DIAZ-ALARCÓN *et al.*, 1996; ZHANG e FRANKENBERGER Jr., 2001; QIU *et al.*, 2006; ALONSO *et al.*, 2008; TOLU *et al.*, 2011). Dentre as diversas possibilidades para a quantificação de espécies que formam hidretos ou o elemento como átomos livres, como o Hg, as técnicas de AFS, AAS e ETAAS são as mais largamente utilizadas (ZHANG e FRANKENBERGER Jr., 2001; QIU *et al.*, 2006; TOLU *et al.*, 2011).

## **2. JUSTIFICATIVA**

A grande geração de resíduos industriais contendo espécies de elevada toxicidade vem contribuindo de forma significativa para a contaminação dos diversos compartimentos ambientais. As diferentes espécies originárias de um mesmo elemento químico podem apresentar graus de toxicidade variáveis, conforme relatado na literatura, o que tem alavancado considerável interesse em estudos focados em análise de especiação nos últimos anos. Nesse sentido, o desenvolvimento e avaliação das figuras de mérito de métodos analíticos voltados para a quantificação desses elementos e, principalmente, a diferenciação das possíveis espécies vem sendo de grande valia atualmente. Isso propicia uma melhor compreensão do comportamento desses elementos e das suas respectivas espécies nas diferentes áreas do conhecimento, o que até pouco tempo vinha sendo negligenciado.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1. Objetivo Geral**

Desenvolver métodos para a análise de especiação química de Sb e As por geração de hidretos e Hg por geração de vapor frio e detecção com Espectrometria de

Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES), associado a sistemas em fluxo, com aplicações para amostras de água e/ou alimentos.

### 3.2. Objetivos Específicos

Visando a atingir o objetivo geral acima, as seguintes etapas deverão ser cumpridas:

- Implementar as condições instrumentais adequadas para a aplicação da técnica de ICP OES por geração química de vapor em sistemas em fluxo para a quantificação de Sb, As, Hg e Metil-Hg<sup>+</sup>;
- Otimizar as condições, de modo que seja possível a especiação dos diferentes elementos;
- Avaliar figuras de mérito dos métodos de quantificação e especiação com base em normas do INMETRO;
- Avaliar a possibilidade de quantificação e/ou especiação em matrizes ambientais e em matrizes de alimentos.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Reagentes

- Ácido clorídrico 0,25 – 5,0 mol L<sup>-1</sup> (Merck, 37% m/m), utilizado como solução transportadora;
- Ácido cítrico 2,5 – 10,0 % (m/v) (Vetec, 98% m/m), utilizado como agente complexante;
- Ácido nítrico 10,0 % (v/v) (Vetec, 65% m/m), para a limpeza de vidrarias;
- Borohidreto de sódio 0,1 – 1, % (m/v) (Merck, 98% m/m), utilizado como agente redutor;
- Cloreto de metil-mercúrio (Aldrich) para o preparo de solução padrão;
- Cloreto de mercúrio (II) (Vetec, 99 % m/m), para o preparo de solução padrão;
- Detergente alcalino (Detertec) 3,0 %, para a lavagem de vidrarias;
- Gás argônio, comercial (White Martins 99,998%) previamente purificado;
- Hidróxido de sódio 0,1 % (m/v) para a estabilização do NaBH<sub>4</sub>;
- Iodeto de potássio 1,0 – 10,0 % (m/v) (Vetec, 99% m/m).utilizado como pré-redutor;
- As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Merck, 99% m/m).para o preparo de solução padrão;
- Peróxido de hidrogênio (Merck, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % (v/v));

- Solução padrão de Sb(III)  $1000 \mu\text{g L}^{-1}$  para absorção atômica em meio de HCl 24% (v/v);
- Solução de  $\text{SbCl}_5$  (Carlos Erba, 99% (v/v)) diluída em  $\text{HNO}_3$   $6,0 \text{ mol L}^{-1}$  (Carlos Erba, 65%);
- Solução padrão de As(V)  $1000 \mu\text{g L}^{-1}$  em meio de  $\text{HNO}_3$   $0,50 \text{ mol L}^{-1}$  (Merck).

#### 4.2. Equipamentos e Materiais

- Balança analítica com precisão de  $\pm 0,1 \text{ mg}$ , da marca Bel, modelo UMark 250A;
- Banho de ultrassom;
- Bomba peristáltica de quatro canais da marca Ismatec, modelo 78016-30;
- Filtro de hélio: Purificador ExcelaSorb modelo 27600-U;
- Purificador de água Millipore modelo Simplicity, dotado de lâmpada UV, proporcionando água com resistividade superior a  $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ ;
- Micropipetas com volume variável da marca Labmate;
- Sistema de digestão por micro-ondas, Start D, Milestone;
- Sistema de osmose reversa (Marca Quimis, Q842-210);
- Sonda ultrassônica, equipamento UNIQUE, frequência ultrassônica de  $20 \text{ KHz}$ ;
- Tubos Tygon®;
- Tubos de Teflon®,  $0,8 \text{ mm}$  de diâmetro interno.

##### 4.2.1. Confecção de materiais

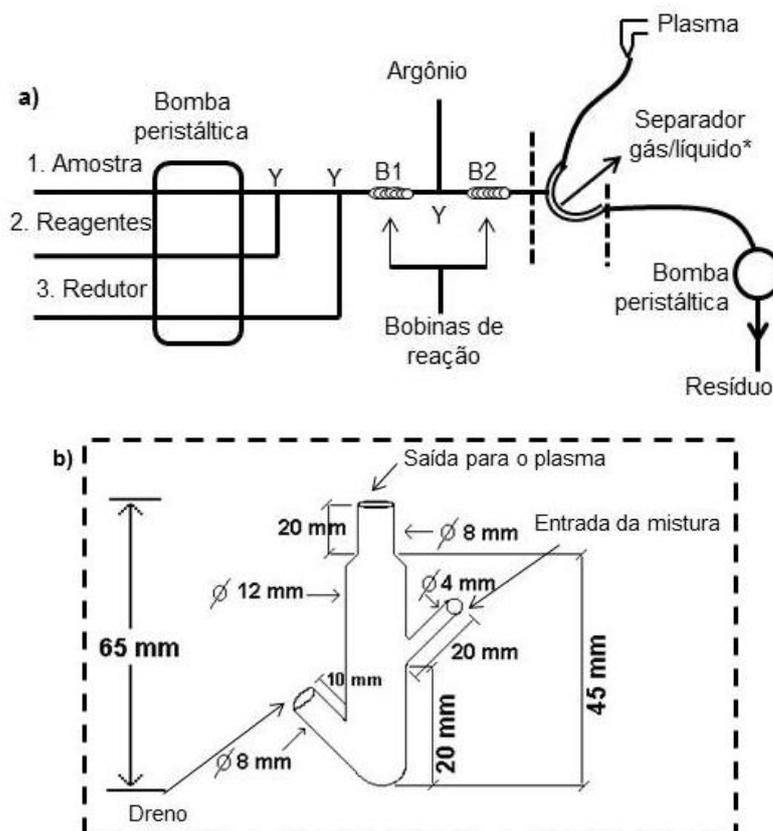
Comutador de acrílico, produzido no CENA-USP, que foi acoplado a um separador de fases no qual foram conduzidas as reações químicas de redução dos elementos de interesse, bem como a separação da fase vapor e subsequente condução ao plasma do ICP OES. Esse separador de fases foi construído em vidro na oficina hialotécnica do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná (DQUI-UFPR).

#### 4.3. Quantificação das espécies de interesse

Para as determinações e especiação foi utilizado um espectrômetro ICP OES, da marca Thermo Scientific, modelo iCAP 6000. A configuração empregada foi axial e os comprimentos de onda da linha de emissão utilizados foram:  $206,833 \text{ (I)}$  e  $217,581 \text{ (I)}$  nm para o Sb;  $189,042 \text{ (I)}$  e  $193,759 \text{ (I)}$  nm para As;  $194,227 \text{ (I)}$  nm para o Hg.

O sistema para a geração de hidretos foi constituído por um conjunto de confluências na forma de “Y” em acrílico, tubos de Teflon® ou polietileno com diâmetro

interno de 0,8 mm para o percurso analítico ou uso em bobinas de reação, separador de fases gás/líquido e bomba peristáltica, conforme apresentado na Figura 13, sendo esta configuração obtida após otimização do sistema para a determinação de Sb e As. Para a determinação do Hg por geração química de vapor, o sistema já havia sido otimizado em um estudo anterior –  $C_{\text{HCl}}$  0,10 mol L<sup>-1</sup>, NaBH<sub>4</sub> 0,05 % (m/v) em 0,1 % (m/v) de NaOH, vazão de HCl, NaBH<sub>4</sub> e Ar 16 mL min<sup>-1</sup>, 1,0 mL min<sup>-1</sup> e 120 mL min<sup>-1</sup>, respectivamente e volume de amostra 500 µL (DOS SANTOS *et al.*, 2012).



**Figura 13.** Esquema do sistema em fluxo e geração de hidretos (a); separador de fases (b).

Na Figura 13, a bobina de reação B1 (50 cm) está localizada após a entrada da amostra e do complexante/pré-redutor, com a finalidade de garantir a reação por completo; a bobina B2 (34 cm) tem a finalidade de garantir um maior tempo de contato entre o analito e os subprodutos da hidrólise ácida do redutor. Em relação às bombas peristálticas, a primeira controla a entrada dos reagentes e amostra, mantendo a vazão de 2,0 mL min<sup>-1</sup>; a segunda controla o dreno com uma vazão de 16,0 mL min<sup>-1</sup>.

#### 4.3.1. Otimização das condições experimentais

Na etapa inicial do trabalho foram considerados os parâmetros mais críticos e passíveis de otimização, sendo estudados: vazão do gás de nebulização (Ar), potência

de radiofrequência, número de bobinas de reação, concentração da solução transportadora (HCl), agente redutor ( $\text{NaBH}_4$ ) e os reagentes utilizados para a especiação do Sb(III)/Sb(V), As(III)/As(V), Hg/Metil-Hg. Os reagentes utilizados foram: pré-redutor (KI), o complexante (ácido cítrico), o  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o HCl. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os parâmetros e intervalos de estudos em cada método (As, Sb e Hg) estão apresentados nas Tabelas 1 – 3.

Para a otimização do método de especiação do antimônio foram avaliados a vazão do gás de nebulização (Ar), as concentrações do reagente carreador – ácido clorídrico (HCl) – que também é importante na formação do hidreto, do redutor – borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) –, o ácido cítrico como agente complexante que tem a finalidade garantir a geração de hidretos por apenas umas das espécies (Sb(III)), a utilização de um pré-redutor – no caso o iodeto de potássio (KI) – responsável pela pré-redução do Sb(V) à Sb(III), visto que a geração de  $\text{SbH}_3$  ocorre, preferencialmente, para o estado de oxidação III. O parâmetro instrumental – potência de radiofrequência – e o número de bobinas de reação, foram avaliados durante a otimização do método para antimônio, e a condição otimizada foi utilizada nos demais métodos propostos. Os intervalos avaliados estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Parâmetros avaliados durante o estudo de otimização do método para Sb.

| Parâmetros  | Intervalos                      |
|---|---------------------------------|
| <b>Potência de Radiofrequência</b>                | 1100 – 1300 W                   |
| <b>Vazão do Gás de nebulização (Ar)</b>           | 0,12 – 0,70 L min <sup>-1</sup> |
| <b>Bobinas de reação</b>                          | 2                               |
| <b>HCl</b>  | 0,25 – 1,0 mol L <sup>-1</sup>  |
| <b>NaBH<sub>4</sub> (em 0,10 % (m/v) de NaOH)</b> | 0,10 – 0,75 % (m/v)             |
| <b>Ácido Cítrico</b>                              | 2,5 – 10,0 % (m/v)              |
| <b>KI</b>   | 1,0 – 6,0 % (m/v)               |
| <b>Solução de Sb(III) e Sb(V)</b>                 | 100,0 µg L <sup>-1</sup>        |

Em relação à otimização do método de especiação do arsênio foi realizada de maneira semelhante – reagentes e concentrações – ao antimônio. Foram avaliados a vazão do gás de nebulização (Ar), as concentrações do reagente carreador – ácido clorídrico (HCl) – que também é importante na formação do hidreto, do redutor (NaBH<sub>4</sub>), o ácido cítrico como agente complexante ou como meio tamponante e em ambos os casos tem a finalidade garantir a geração de hidretos por apenas umas espécies (As(III)), a utilização de um pré-redutor – no caso o KI e o HCl – responsável pela pré-redução do As(V) à As(III), para garantir a máxima formação do hidreto a partir de um único estado de oxidação no caso, o As(III). Os intervalos avaliados estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Parâmetros avaliados na otimização do método para a análise de especiação de As.

| Parâmetros  | Intervalos                      |
|---|---------------------------------|
| <b>Vazão do Gás de nebulização (Ar)</b>           | 0,12 – 0,70 L min <sup>-1</sup> |
| <b>HCl</b>  | 0,50 – 1,0 mol L <sup>-1</sup>  |
| <b>NaBH<sub>4</sub> (em 0,10 % (m/v) de NaOH)</b> | 0,20 – 1,0 % (m/v)              |
| <b>Ácido Cítrico</b>                              | 10,0 - 40,0 % (m/v)             |
| <b>pH do ácido cítrico</b>                        | 3,0 e 4,5                       |
| <b>KI</b>   | 1,0 – 50,0 % (m/v)              |
| <b>HCl – etapa de pré-redução</b>                 | 0,50 – 5,0 mol L <sup>-1</sup>  |
| <b>Soluções de As(III) e As(V)</b>                | 100,0 µg L <sup>-1</sup>        |

No caso do mercúrio, o método de quantificação já foi desenvolvido em trabalho anterior (DOS SANTOS *et al.*, 2012). Dessa forma a etapa de otimização foi focada no preparo de amostra, onde foram avaliados a utilização do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) que tem a finalidade de liberar o Hg(II) presente no metil-Hg<sup>+</sup>, controle da temperatura

para avaliar possíveis perdas do mercúrio - visto a alta volatilidade deste elemento-, potência e tempo de ultrassom, importante na liberação do Hg(II). Os intervalos avaliados estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Parâmetros avaliados para o desenvolvimento do método para análise de especiação de Hg.

| <b>Parâmetros</b>                 | <b>Intervalos</b>     |
|-----------------------------------|-----------------------|
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | 0,297 – 1,429 % (v/v) |
| <b>Temperatura</b>                | 0 °C e 21 °C          |
| <b>Potência do ultrassom</b>      | 100 – 500 W           |
| <b>Tempo de ultrassom</b>         | 1 – 5 min             |

#### 4.3.2. Coleta e preparo das amostras

Para a etapa de validação do método proposto foram coletadas amostras de arroz branco, adquirido no comércio de Joinville e proveniente da produção local. As amostras de água foram coletadas no estuário de água salgada de Joinville-SC, conhecido como Baía da Babitonga, e no córrego localizado no Bairro Vila Nova, localizado na mesma cidade. Elas foram coletadas segundo o procedimento apresentado no Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas, efluentes líquidos (CETESB e ANA, 2011). As amostras de água foram coletadas em frascos âmbar, previamente limpos e ambientados com a amostra, estes foram totalmente submersos de modo a garantir que não permanecesse ar no interior do frascos. Após a coleta, os frascos foram transportados em bolsa térmica com gelo para garantir a temperatura de 4 °C até a chegada no laboratório. As amostras foram preservadas em frascos de âmbar e refrigeradas (4 °C) até o momento da análise, o tempo entre a coleta e a análise foi inferior a 24 h. Amostras de água mineral com e sem gás foram adquiridas no comércio de Curitiba-PR.

Os estudos de recuperação, para as amostras de água, foram realizados por meio de fortificações, ou seja, na adição de soluções com diferentes concentrações do analito de interesse em cada caso (As (III) e As (V), Sb (III) e Sb (III), metil-Hg<sup>+</sup> e Hg (II)), seguida pela determinação da concentração do analito adicionado, A porcentagem de recuperação foi calculada comparando a concentração presente, levando em consideração a concentração adicionada e a presente na amostra sem adição de solução, e a concentração determinada.

A amostra de arroz foi preparada seguindo diferentes procedimentos, todos visando à especiação de arsênio. Os procedimentos foram:

Extração assistida com micro-ondas (MAE) – Alíquotas de 0,150 g de amostras foram adicionadas em tubos de digestão juntamente com 10,0 mL de água ultrapura. Os tubos foram fechados e mantidos a 80 °C por 6 min; após esse período, as amostras foram resfriadas em temperatura ambiente. As suspensões foram centrifugadas a 3000 rpm durante 5 min e o sobrenadante filtrado em membrana com abertura de poro de 0,45 µm (BRISBIN e CARUSO, 2002; NARUKAWA *et al.*, 2008; LEUFROY *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2013).

Extração por ultrassom – Alíquotas semelhantes ao procedimento anterior foram adicionadas em tubos de polipropileno e colocadas em banho de ultrassom por 1 h a 25 °C. Após esse período, as amostras foram centrifugadas por 5 min e o sobrenadante filtrado em membrana com abertura de poro de 0,45 µm (BRISBIN e CARUSO, 2002; NARUKAWA *et al.*, 2008).

Extração assistida por ultrassom – Alíquotas ao redor de 1 g de amostras foram adicionadas em tubos de polipropileno com 10 mL de Triton X-114 0,10 % (m/v). As suspensões foram sonicadas por 10 min e centrifugadas a 3000 rpm por 10 min. O sólido resultante foi separado e adicionado a um volume de 10 mL de EDTA 0,10 % (m/v), seguido de centrifugação por 3000 rpm, durante 10 min. Ambos os sobrenadantes foram homogeneizados para a determinação de arsênio (REYES *et al.*, 2007).

Todos os procedimentos de extração foram realizados nas amostras com e sem adição de solução em diferentes concentrações do analito de interesse (As(III) e (As(V))). Essa etapa teve como objetivo garantir que todas as espécies presentes fossem submetidas às mesmas condições, permitindo verificar perdas ocasionadas por conversão entre as espécies durante os procedimentos de extração. A porcentagem de recuperação foi calculada levando em consideração as concentrações presentes, que consiste na concentração adicionada e a concentração presente na amostra sem a adição de solução de concentração conhecida, e as concentrações determinadas.

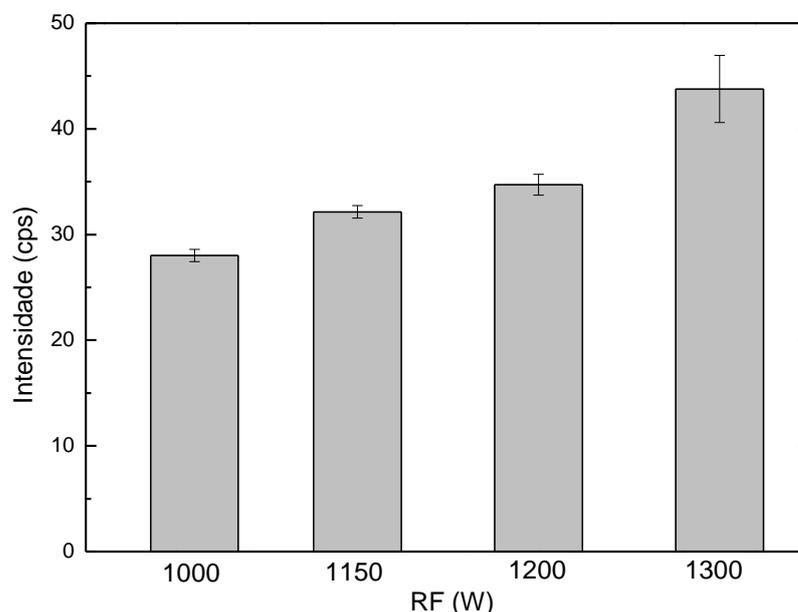
## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1. Otimização das condições para a determinação de Sb**

#### **5.1.1. Potência de radiofrequência**

Em ICP OES com configuração axial, o sinal correspondente à concentração do elemento e da relação sinal-ruído é diretamente dependente da transferência de energia do plasma para os analitos e do tempo de residência das espécies no plasma (CHAUSSEAU *et al.*, 2000).

Desse modo, o primeiro parâmetro investigado foi o impacto da potência de radiofrequência no sinal analítico. Foram avaliados quatro valores diferentes e os resultados podem ser observados na Figura 14.

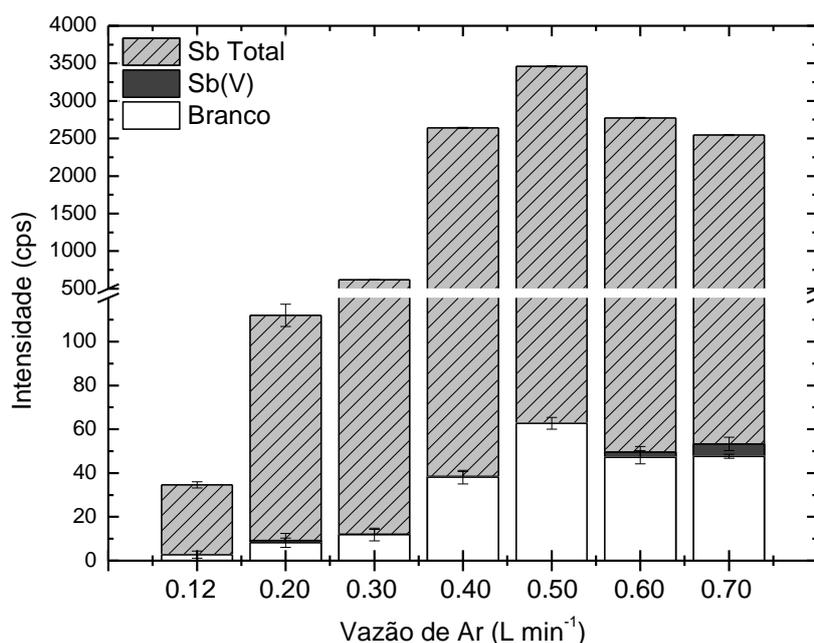


**Figura 14.** Otimização da potência de radiofrequência (vazão do gás de nebulização  $0,12 \text{ L min}^{-1}$ ;  $C_{\text{Sb(III)}}$   $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{\text{NaBH}_4}$   $0,10 \%$  em  $0,10 \%$  de NaOH;  $C_{\text{HCl}}$   $0,75 \text{ mol L}^{-1}$ ; vazões de reagentes e amostras  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ ;  $n = 3$ ;  $217,581 \text{ (I) nm}$ ).

Como pode ser observado, maiores valores de radiofrequência levam a um aumento no sinal analítico, resultado coerente com a dependência da transferência de energia relatada anteriormente (CHAUSSEAU *et al.*, 2000). Não foram considerados valores acima de  $1300 \text{ W}$ , pois esse valor está muito próximo do máximo permitido pelo equipamento utilizado ( $1350 \text{ W}$ ). Considerando o incremento no sinal com o aumento da radiofrequência e valores de estimativas de desvio padrão aceitáveis, os estudos posteriores foram realizados utilizando-se uma potência de radiofrequência de  $1300 \text{ W}$ .

### 5.1.2. Vazão do gás de nebulização

Na otimização deste parâmetro, foram avaliadas as vazões de argônio entre  $0,12$  e  $0,70 \text{ L min}^{-1}$ ; os resultados são apresentados na Figura 15. Para este estudo foram utilizadas soluções de Sb total  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , que consiste em uma solução contendo Sb(III) e Sb(V), ambas em concentração de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , e solução de Sb(V)  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ .



**Figura 15.** Otimização da vazão do gás de nebulização (RF 1300 W;  $C_{Sb}$  100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{Sb \text{ total}}$  200  $\mu\text{g L}^{-1}$  (100  $\mu\text{g L}^{-1}$  Sb(III) + 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  Sb(V));  $C_{NaBH_4}$  0,10 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH;  $C_{HCl}$  0,75 mol  $\text{L}^{-1}$ ;  $C_{\text{ácido cítrico}}$  10,0 % (m/v) vazões de reagentes e amostras 2,0 mL  $\text{min}^{-1}$ ;  $n = 3$ ; 217,581 (I) nm).

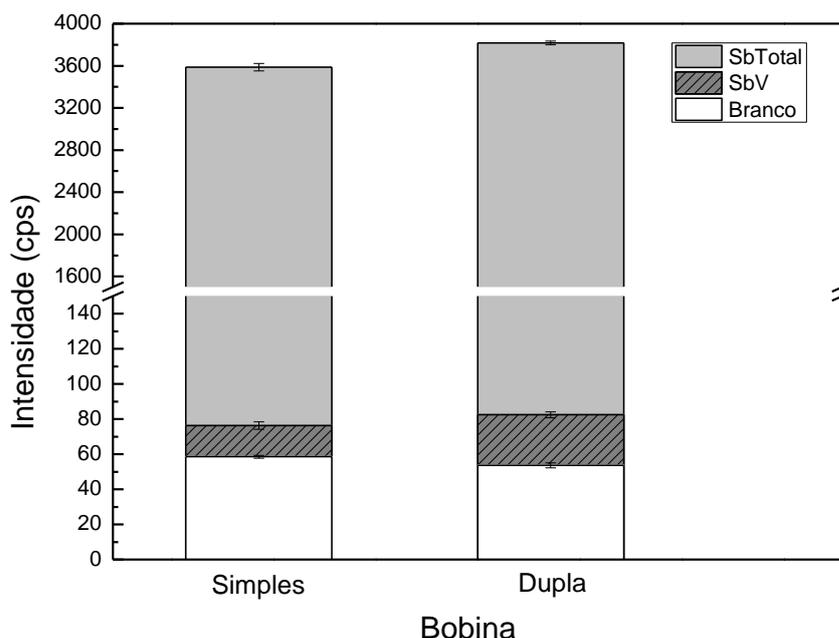
Com os resultados apresentados na Figura 15, pode ser verificado um incremento significativo no sinal do analito conforme o aumento na vazão, que pode estar associado ao maior arraste de espécies para o plasma. Após a vazão de 0,50  $\text{L min}^{-1}$  foi observado um decréscimo no sinal analítico. Esse resultado sugere que as vazões muito elevadas podem dificultar a geração do hidreto, levando ao decréscimo do sinal observado ou ainda a uma possível perda de parte do hidreto gerado devido à maior pressão dentro do sistema. Com base nos resultados, a vazão de 0,50  $\text{L min}^{-1}$  foi selecionada para conduzir as demais etapas do estudo.

Um fator importante em análises de especiação é garantir a determinação seletiva das espécies, fazendo uso de reagentes adequados. Com essa finalidade o ácido cítrico é utilizado, agindo como um agente complexante do Sb(V), permitindo assim a determinação do Sb(III) (FENG, *et al.*, 1999; FLORES *et al.*, 2002; FUENTES *et al.*, 2003).

Outro aspecto relevante constatado neste estudo é que os sinais analíticos entre a prova em branco e o Sb(V) foram relativamente próximos, demonstrando a possibilidade da análise de especiação. A eficiência na geração de estibina,  $\text{SbH}_3$ , é dependente do estado de oxidação do analito, sendo que o antimônio no estado de oxidação III é passível de formação de hidreto volátil e, com isso, é necessária uma etapa prévia de redução do Sb(V) a Sb(III) (MENEGÁRIO *et al.*, 2006; MENEGÁRIO *et al.*, 2008).

### 5.1.3. Número de bobinas de reação

Optou-se em avaliar o uso de uma ou duas bobinas de reação, visto que a literatura relata diferentes caminhos reacionais para a geração do hidreto (DODD *et al.*, 1996; D'ULIVO *et al.*, 2011). Dessa forma, foi avaliado o emprego de uma bobina de reação após a entrada da amostra acidificada com HCl e o redutor (bobina simples – 50 cm) e outra bobina após a entrada do gás de nebulização (bobina dupla – 50 cm B1 + 34 cm B2) que, neste caso, tem como função uma melhor taxa de mistura dos subprodutos formados. A Figura 16 mostra os resultados obtidos.

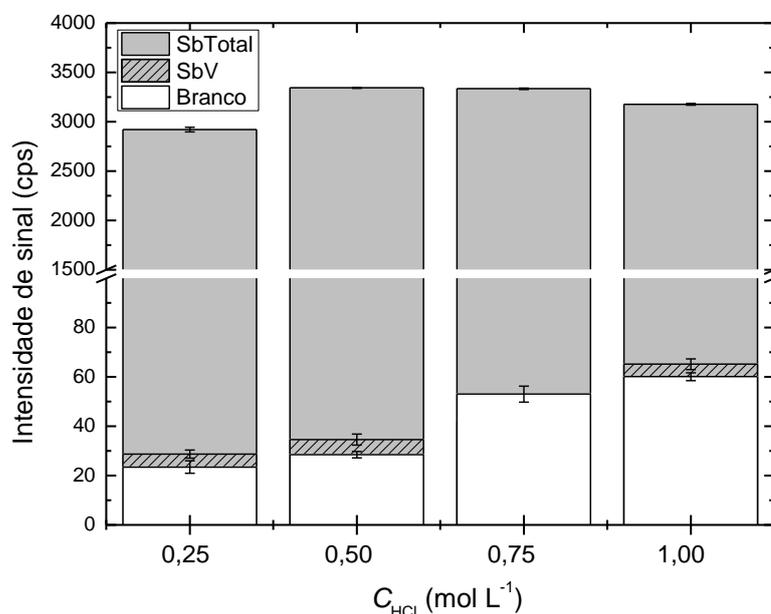


**Figura 16.** Estudo da influência do caminho reacional utilizando uma bobina e duas bobinas de reação (RF 1300 W; vazão do gás de nebulização 0,50 L min<sup>-1</sup>; C<sub>Sb</sub> 100 µg L<sup>-1</sup>; C<sub>Sb total</sub> 200 µg L<sup>-1</sup> (100 µg L<sup>-1</sup> Sb(III) + 100 µg L<sup>-1</sup> Sb(V) ); C<sub>NaBH<sub>4</sub></sub> 0,10 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH; C<sub>HCl</sub> 0,75 mol L<sup>-1</sup>; C<sub>ácido cítrico</sub> 10,0 % (m/v); vazões de reagentes e amostras 2,0 mL min<sup>-1</sup>; n = 3; 217,581 (I) nm).

Observando os resultados apresentados na Figura 16, é possível notar um incremento (6,4%) no sinal na presença da segunda bobina no caminho. Esse comportamento era esperado, visto que a literatura relata que os processos de geração de hidretos são controlados pela taxa de mistura das soluções e os intermediários gerados pelo rápido consumo do NaBH<sub>4</sub>, que são mais estáveis em meio de hidrólise ácida e podem apresentar uma maior probabilidade de reagir com o analito, favorecendo a reação (D'ULIVO *et al.*, 2011). Com a utilização da segunda bobina de reação, houve também uma diminuição na turbulência no separador de fases. Esse efeito foi de grande importância, visto que refletiu nos resultados por um menor desvio entre as replicatas, o que motivou a condução dos estudos posteriores usando duas bobinas de reação.

#### 5.1.4. Concentração da solução transportadora (HCl)

Outro fator importante na geração de hidretos é a dependência do pH, que é influenciada pela solução carreadora (HCl). Dessa forma, foi otimizada a concentração de HCl e os resultados são mostrados na Figura 17.



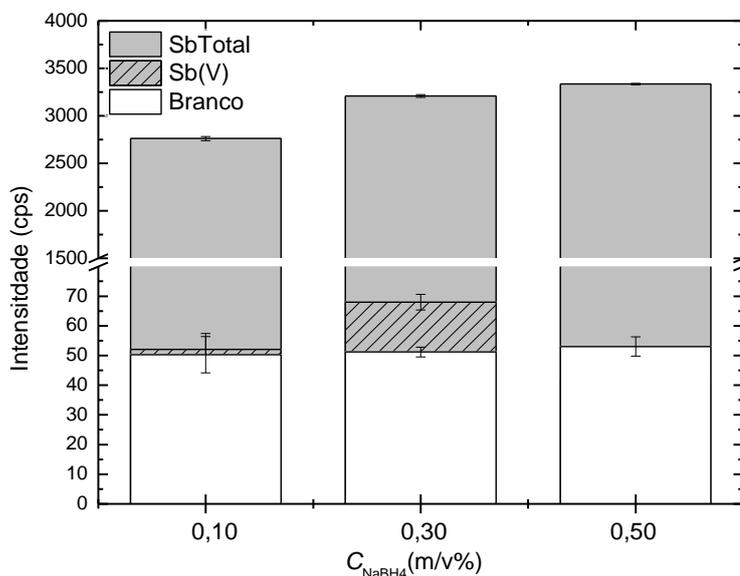
**Figura 17.** Variação na intensidade de sinal em diferentes concentrações de HCl. (RF 1300 W; vazão do gás de nebulização 0,50 L min<sup>-1</sup>;  $C_{\text{Sb}}$  100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{\text{Sb total}}$  200  $\mu\text{g L}^{-1}$  (100  $\mu\text{g L}^{-1}$  Sb(III) + 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  Sb(V) );  $C_{\text{NaBH}_4}$  0,10 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH;  $C_{\text{ácido cítrico}}$  10,0 % (m/v); 2 bobinas de reação; vazões de reagentes e amostras 2,0 mL min<sup>-1</sup>;  $n = 3$ ; 217,581 (l) nm).

Conforme observado na Figura 17, apesar da presença de HCl ser um importante fator na formação do hidreto (FENG *et al.*, 1999), a utilização de concentração mais elevada desse reagente (1,00 mol L<sup>-1</sup>) provocou um decréscimo no sinal analítico que pode estar associado ao aumento da umidade proveniente da turbulência no separador de fases e que acaba sendo arrastada ao plasma. Essa turbulência é ocasionada pelo excesso H<sub>2</sub> produzido no interior do separador de fases. As concentrações de HCl de 0,50 e 0,75 mol L<sup>-1</sup> proporcionaram o mesmo sinal analítico, e para a concentração de HCl 0,75 mol L<sup>-1</sup> foi constatado um maior sinal para a prova em branco. Apesar disso, essa maior concentração foi selecionada, visto que apresentou o menor sinal de Sb(V), o que é o ideal para o estudo de especiação de Sb(III) e Sb(V).

#### 5.1.5. Concentração do agente redutor (NaBH<sub>4</sub>)

Na Figura 18 estão apresentados os resultados da variação da concentração de NaBH<sub>4</sub>, sendo este considerado crítico pelo fato do composto estar diretamente relacionado à formação do hidreto volátil. Foram avaliadas concentrações diferentes; no

entanto foi observada grande formação de vapores de água e turbulência ocasionada pela produção em excesso de vapores e reação dentro do separador de fases devido ao arraste de umidade ao plasma, comprometendo a análise na reação durante os testes com a solução de  $\text{NaBH}_4$  em concentração acima de 0,50% (m/v). Devido a esse fato, serão mostrados somente os experimentos realizados com as soluções de  $\text{NaBH}_4$  0,10; 0,30 e 0,50% (m/v).



**Figura 18.** Estudo da influência da concentração de  $\text{NaBH}_4$  na intensidade do sinal (RF 1300 W; vazão do gás de nebulização  $0,50 \text{ L min}^{-1}$ ;  $C_{\text{Sb}}$   $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{\text{Sb total}}$   $200 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $100 \mu\text{g L}^{-1}$  Sb(III) +  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  Sb(V) ); Solução de  $\text{NaBH}_4$  em 0,10 % (m/v) de NaOH;  $C_{\text{HCl}}$   $0,75 \text{ mol L}^{-1}$ ;  $C_{\text{ácido cítrico}}$  10,0 % (m/v); 2 bobinas de reação; vazões de reagentes e amostras  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ ;  $n = 3$ ; 217,581 (l) nm).

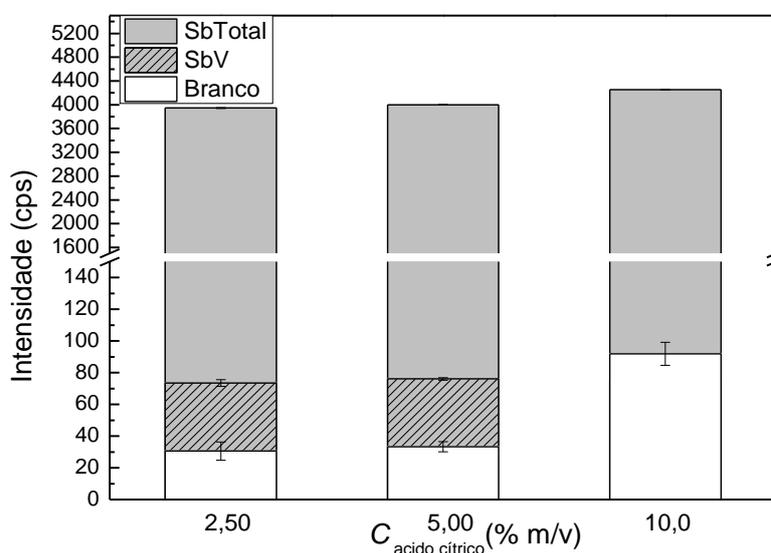
Conforme mostrado na Figura 18, com o aumento da concentração do redutor, houve um incremento na intensidade de sinal do analito; quando comparadas as concentrações de 0,30 % e 0,50 %, o aumento foi de aproximadamente 4 %. Tendo em vista um método que apresente detectabilidade adequada para a quantificação dessa espécie, esse aumento na intensidade de sinal pode ser considerado significativo e, com isso, optou-se em trabalhar com a concentração de  $\text{NaBH}_4$  0,50 % (m/v) nos estudos seguintes.

#### 5.1.6. Concentração do agente complexante

A formação de  $\text{SbH}_3$  é facilmente obtida a partir de Sb(III) e tetrahidroboratos, enquanto que com Sb(V) o hidreto volátil é formado de maneira incompleta e não pode ser reduzido a pH quase neutro. Alguns estudos têm explorado a dependência do pH do  $\text{NaBH}_4$  na redução de compostos inorgânicos de antimônio quando envolve a especiação (FLORES *et al.*, 2002).

Diferentes trabalhos vêm relatando a utilização de agentes complexantes ou de tampão para o estudo de especiação, sendo em maior destaque a complexação de Sb(V) por ácido cítrico (FENG, *et al.*, 1999; FLORES *et al.*, 2002; FUENTES *et al.*, 2003). Apesar de estar muito difundido o uso do ácido cítrico para a complexação, seu mecanismo não está bem elucidado. Sabe-se que, apesar de ambas as espécies serem complexadas, apenas o Sb(V) é complexado rapidamente, diferente do Sb(III) que, para sua possível complexação, é necessário o uso de sistemas sob reações em refluxos prolongados (GUY *et al.*, 1998).

Com isso foi avaliada a melhor concentração de ácido cítrico a ser utilizada na especiação do antimônio. Na Figura 19 estão apresentados os resultados obtidos com a variação da concentração do ácido cítrico.



**Figura 19.** Variação da concentração de agente complexante (ácido cítrico) (RF 1300 W; vazão do gás de nebulização 0,50 L min<sup>-1</sup>; C<sub>Sb</sub> 100,00 µg L<sup>-1</sup>; C<sub>Sb total</sub> 200 µg L<sup>-1</sup> (100 µg L<sup>-1</sup> Sb(III) + 100 µg L<sup>-1</sup> Sb(V) ); C<sub>NaBH<sub>4</sub></sub> 0,50 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH; C<sub>HCl</sub> 0,75 mol L<sup>-1</sup>; 2 bobinas de reação; vazões de reagentes e amostras 2,0 mL min<sup>-1</sup>; n = 3; 217,581 (I) nm).

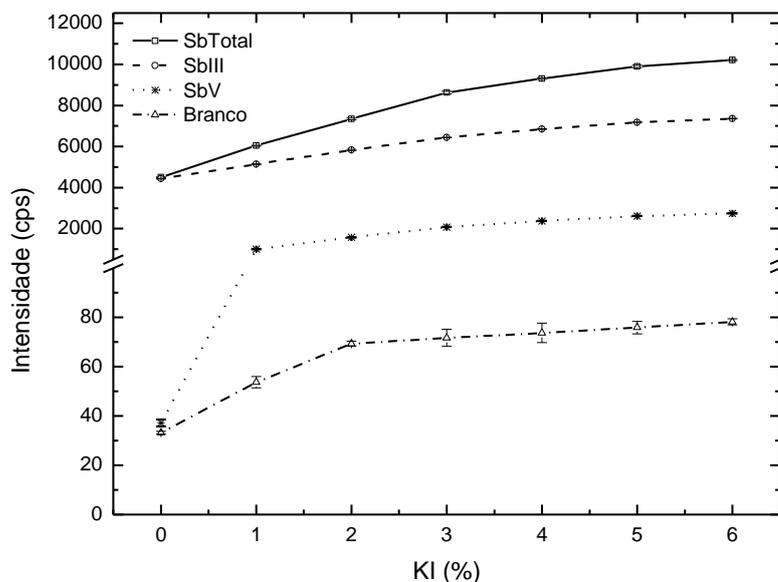
Analisando o gráfico apresentado na Figura 19 é observado que, ao se utilizar concentrações de ácido cítrico inferiores a 10,0 %, há a presença de significativos sinais para as soluções de Sb(V), o que torna inadequada a utilização dessas concentrações para o estudo de especiação. Com isso, a concentração do ácido cítrico foi fixada em 10,0 % (m/v) nos demais estudos. Concentrações superiores a esse valor não foram estudadas devido aos resultados satisfatórios obtidos. Como citado anteriormente o ácido cítrico atua na complexação do Sb(V), deixando livre o Sb(III) para sua possível determinação na presença do Sb(V) (GUY *et al.*, 1998).

### 5.1.7. Concentração do pré-redutor

Para que seja possível a determinação de antimônio total por geração de hidretos é necessária a pré-redução do Sb(V) para Sb(III), isso é devido ao rendimento químico negligenciável para a geração de  $\text{SbH}_3$  a partir de Sb(V). O iodeto de potássio (KI) tem sido o pré-redutor utilizado em muitos trabalhos (CAMPBELL, 1992; FENG *et al.*, 1999).

O KI atua como pré-redutor do Sb(V), reduzido-o a Sb(III), permitindo a formação do  $\text{SbH}_3$  e posterior quantificação. Outros agentes pré-redutores foram testados, porém os resultados não foram satisfatórios, o que explica o grande número de trabalhos fazendo do KI.

Devido a isso, foi otimizada a concentração de iodeto de potássio a ser utilizada na etapa de pré-redução do Sb(V) a Sb(III) para posterior geração de hidretos. O resultado é apresentado na Figura 20.



**Figura 20.** Otimização da concentração de pré-redutor (KI) sobre o sinal de Sb total (RF 1300 W; vazão do gás de nebulização  $0,50 \text{ L min}^{-1}$ ;  $C_{\text{Sb}}$   $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{\text{Sb total}}$   $200 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $100 \mu\text{g L}^{-1}$  Sb(III) +  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  Sb(V) );  $C_{\text{NaBH}_4}$   $0,50 \%$  (m/v) em  $0,10 \%$  (m/v) de NaOH;  $C_{\text{HCl}}$   $0,75 \text{ mol L}^{-1}$ ; 2 bobinas de reação; vazões de reagentes e amostras  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ ;  $n = 3$ ;  $217,581 \text{ (I) nm}$ ).

Analisando o gráfico apresentado na Figura 20, foi constatado um incremento no sinal do Sb total e Sb(V) superior ao sutil incremento observado para o Sb(III). Para avaliar qual seria o meio mais indicado, foi avaliada a diferença na razão da intensidade de sinal de Sb(III) / Sb(V), sendo os resultados expressos na Tabela 4.

**Tabela 4.** Comparação da razão da intensidade do sinal de Sb(III) / Sb(V).

| % KI | Sb(III) / Sb(V) |
|------|-----------------|
| 1,0  | 5,12            |
| 2,0  | 3,70            |
| 3,0  | 3,10            |
| 4,0  | 2,88            |
| 5,0  | 2,74            |
| 6,0  | 2,68            |

Comparando as razões apresentadas na Tabela 4, foi verificado um aumento do sinal do Sb(V) em relação ao Sb(III), sendo mais evidenciado com o aumento da concentração de KI. Essa diferença apresenta uma maior queda para as primeiras concentrações utilizadas. Foi constatado que essa diferença tende a diminuir em concentrações mais elevadas; porém, observando as concentrações finais avaliadas, a diferença entre os sinais decai sutilmente, o que motivou a finalização deste estudo, sendo adotada a concentração de 6,0 %.

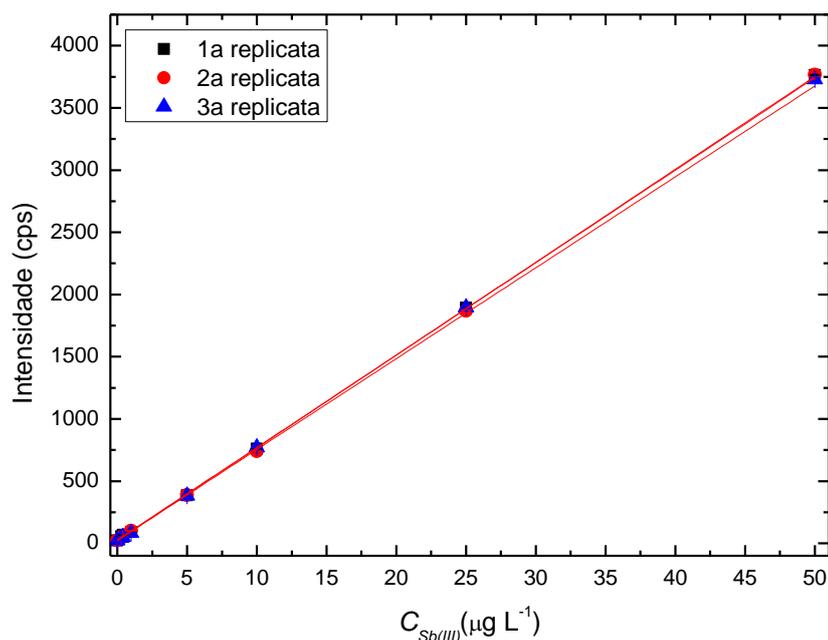
#### 5.1.8. Figuras de mérito

Após o término da etapa de otimização, para a análise de especiação química, as variáveis estudadas foram fixadas em: potência de radiofrequência em 1300 W, vazão do gás de nebulização em 0,50 L min<sup>-1</sup>, concentração de NaBH<sub>4</sub> em 0,50 % (m/v) e em 0,10 % (m/v) de NaOH, concentração de HCl em 0,75 mol L<sup>-1</sup>, concentração de ácido cítrico em 10,0% (m/v), concentração de KI em 6,0 % (m/v), além do uso de duas bobinas de reação.

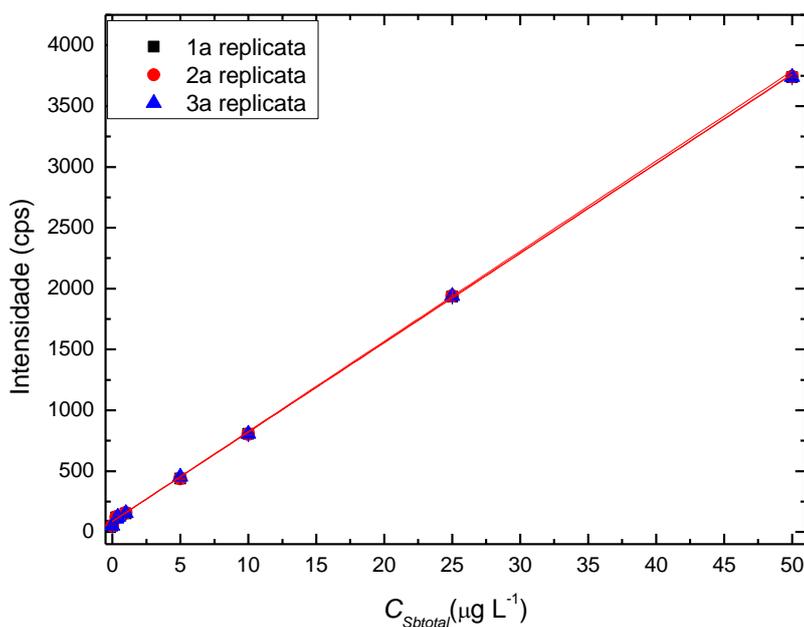
Com o sistema otimizado, a próxima etapa consistiu na avaliação de alguns parâmetros de mérito do método, com base na orientação do INMETRO (INMETRO, 2011).

O primeiro parâmetro estudado foi a faixa de trabalho do método com base na equação de regressão linear. Para tal, foram preparadas três curvas analíticas com concentrações entre 0,30 e 50,0 µg L<sup>-1</sup> para o Sb (III) e para o Sb total, as quais são apresentadas na Figura 21.

A



B



**Figura 21.** Curvas analíticas obtidas para a avaliação da faixa de trabalho (A – Sb(III); B – Sb total (50,0% (v/v) Sb(III) e 50,0% (v/v) Sb(V)); RF 1300 W; vazão do gás de nebulização 0,50 L min<sup>-1</sup>;  $C_{Sb}$  100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{Sb\text{ total}}$  200  $\mu\text{g L}^{-1}$  (100  $\mu\text{g L}^{-1}$  Sb(III) + 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  Sb(V));  $C_{NaBH_4}$  0,50 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH;  $C_{HCl}$  0,75 mol L<sup>-1</sup>;  $C_{\text{ácido cítrico}}$  10,0 % (m/v);  $C_{KI}$  6,0 % (m/v); 2 bobinas de reação; vazões de reagentes e amostras 2,0 mL min<sup>-1</sup>;  $n = 3$ ; 217,581 (l) nm).

De acordo com a Figura 21, uma linearidade apropriada foi constatada, levando em consideração cada uma das curvas analíticas. Também foi possível observar que as triplicatas em cada uma das figuras estão praticamente sobrepostas, indicando uma

adequada repetitividade. Os valores dos coeficientes de determinação ( $r^2$ ) e as respectivas equações das curvas analíticas foram obtidas e estão apresentadas na Tabela 5.

**Tabela 5.** Dados obtidos pelas curvas analíticas apresentadas na Figura 21.

|          | Curva | $r^2$  | Equação da reta                  |
|----------|-------|--------|----------------------------------|
| Sb(III)  | 1     | 0,9996 | $I = 27,817 + 74,292C_{Sb(III)}$ |
|          | 2     | 0,9996 | $I = 23,532 + 73,057C_{Sb(III)}$ |
|          | 3     | 0,9997 | $I = 20,611 + 74,636C_{Sb(III)}$ |
| Sb total | 1     | 0,9995 | $I = 86,799 + 73,557C_{SbTotal}$ |
|          | 2     | 0,9989 | $I = 85,257 + 73,485C_{SbTotal}$ |
|          | 3     | 0,9999 | $I = 85,517 + 74,069C_{SbTotal}$ |

I: Intensidade de emissão (cps), C: concentração.

Cabe informar que concentrações inferiores a  $0,30 \mu\text{g L}^{-1}$  foram investigadas, entretanto os sinais analíticos não apresentaram diferenças significativas em comparação com a prova em branco. Na outra extremidade, concentrações mais elevadas também foram estudadas, porém esses dados não foram utilizados em decorrência de produzirem sinais discrepantes, impedindo uma determinação confiável nos valores de contagens por segundo (cps) pelo software. De acordo com a Tabela 5, pode-se inferir que uma linearidade apropriada foi obtida para a faixa estudada com adequada similaridade nos valores de coeficientes lineares, angulares e de determinação.

Também foram avaliados os valores de limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) de acordo com as expressões:  $\text{LOD} = 3s/S$  e  $\text{LOQ} = 10s/S$ , no qual  $s$  representa a estimativa do desvio padrão com base nos sinais analíticos obtidos para 10 provas em branco e  $S$  é a inclinação da curva analítica, sendo os valores obtidos mostrados na Tabela 6.

**Tabela 6.** LOD e LOQ obtidos a partir dos parâmetros das curvas analíticas. Os valores entre parênteses denotam a concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) que foi considerada.

| Parâmetros   | Sb(III)        | Sb Total       |
|--|----------------|----------------|
| Inclinação ( $\text{L } \mu\text{g}^{-1}$ )            | $74,0 \pm 0,4$ | $73,8 \pm 0,5$ |
| Estimativa de desvio ( $s$ )                           | 1,32           | 2,66           |
| LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )                           | 0,05           | 0,11           |
| LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )                           | 0,18           | 0,36           |
| % RSD máximo / (Concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | 6,1 / (0,40)   | 8,2 / (1,00)   |
| % RSD mínimo / (Concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | 0,5 / (50,0)   | 0,8 / (0,4)    |

Com base nos valores calculados para LOD e LOQ (Tabela 6), pode-se inferir que o método obtido apresentou uma detectabilidade adequada, além de valores de RSD aceitáveis. É importante ressaltar que, apesar do LOD e LOQ calculado com base nos parâmetros da curva estarem abaixo do último ponto da curva analítica, o LOQ levado em consideração no trabalho foi de  $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ , devido ao fato de não ter sido possível a diferenciação dos sinais de concentração inferior e a prova em branco, conforme discutido anteriormente.

Outro parâmetro avaliado foi a exatidão do método, sendo comparado o grau de concordância entre o valor encontrado e o valor adotado como verdadeiro, com base nos valores de adição e recuperação, foi adotado processo de fortificação por não haver disponibilidade de amostras de material de referência certificado.. Nesta etapa, foram utilizadas amostras de águas minerais de garrafas PET de 500 mL, sendo as amostras fortificadas, por meio de adição de volumes conhecidos de solução padrão de ambas as espécies (Sb(III) e Sb(V)). Os resultados são apresentados na Tabela 7. Para os resultados envolvendo as adições, foram consideradas as concentrações de antimônio encontradas nas amostras sem a adição. Apesar de não apresentados na tabela, os valores de RSD foram de 0,2 a 6,2 %, indicando a boa precisão do método.

**Tabela 7.** Resultados obtidos para a determinação de Sb a partir de amostras reais.

| Amostras                 | Sb(III)                  | RSD | Sb total                 | RSD | Adição 1        | R <sup>1</sup> (%) | Adição 2        | R <sup>1</sup> (%) |
|--------------------------|--------------------------|-----|--------------------------|-----|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|
|                          | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | (%) | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | (%) | Sb(III) – Sb(T) | Sb(III) – Sb(T)    | Sb(III) – Sb(T) | Sb(III) – Sb(T)    |
| <b>Água sem gás (A1)</b> | < LOQ                    |     | 2,2                      | 1,7 | 1,0 – 4,2       | 90,0 – 92,9        | 10,0 – 17,2     | 92,0 – 87,2        |
| <b>Água sem gás (A2)</b> | < LOQ                    |     | 3,3                      | 1,3 | 1,0 – 5,3       | 80,0 – 94,3        | 10,0 – 18,3     | 94,8 – 88,6        |
| <b>Água sem gás (A3)</b> | < LOQ                    |     | 3,4                      | 0,8 |                 |                    |                 |                    |
| <b>Água com gás (A4)</b> | 0,31                     | 3,2 | 3,1                      | 2,0 |                 |                    |                 |                    |
| <b>Água com gás (A5)</b> | < LOQ                    |     | 3,1                      | 2,5 |                 |                    |                 |                    |

<sup>1</sup>R: Percentual de recuperação; LOQ: 0,11 e 0,36  $\mu\text{g L}^{-1}$ , para Sb(III) e Sb(V), respectivamente.

Adição 1 – 1,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Sb(III) e 1,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  Sb(V); Adição 2 - 10,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Sb(III) e 5,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  Sb(V).

Com base nos resultados apresentados, foi possível constatar uma exatidão adequada com valores de recuperação de 85 % a 99 %. Os dados também permitiram constatar níveis de precisão aceitáveis com valor de RSD máximo de 6,2 %. Com esses valores também foi possível avaliar a adequação das amostras de água mineral com os padrões de potabilidade estabelecidos pela portaria 2914 de 2011 do Ministério da Saúde, que estipula um valor máximo permitido para antimônio de  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ . Os valores de LOQ obtido para Sb(III) e Sb(V), respectivamente, 0,18 e  $0,36 \mu\text{g L}^{-1}$ , também permite atender à norma da U.S. Food and Drug Administration (FDA), cujo valor máximo permitido de antimônio é de  $6 \mu\text{g L}^{-1}$ . Em ambos os casos, os valores máximos permitidos são referentes à concentração total de Sb, não havendo distinção em relação às espécies Sb(III) e Sb(V), apesar do Sb(III) ser considerado mais tóxico que o Sb(V) (FLORES *et al.*, 2002; FILELLA *et al.*, 2007). Apesar disso, apenas na amostra A4 foi constatada a presença de Sb(III), porém muito próximo do LOQ do método. É provável que as legislações atuais sejam gradualmente modificadas ao longo do tempo, com a possibilidade de exigências relativas à especificação. Isso já é verificado atualmente para o elemento cromo, para o qual é feita a distinção entre Cr(III) e Cr(VI), de acordo com o CONAMA (CONAMA, 2008), o que corrobora a importância da análise de especificação. De modo geral, o método obtido apresentou parâmetros de mérito satisfatórios e similares a outros métodos apresentados na literatura (DE GREGORI *et al.*, 2005; FENG *et al.*, 1999; LI *et al.*, 2006; DEPOI E POZEBON, 2012) com a vantagem de não requerer o uso de técnicas com maior aparato científico, como HPLC-ICP-MS, e nem etapas prévias de pré-concentração.

A adequação do método também pode ser confirmada quando compara com os parâmetros de mérito de outros trabalhos apresentados na literatura (Tabela 8), no qual é possível observar que os limites obtidos no estudo se destacam frente a técnicas como HPLC para a especificação, além do menor consumo de reagente e sem etapas de pré-concentração ou o uso de resinas.

**Tabela 8.** Comparação dos parâmetros obtidos neste trabalho com os apresentados na literatura.

| Método      | Reagentes  | LOD  | RSD  | Referências                      |
|-------------|--|--|--|----------------------------------|
| CVG-ICP OES | NaBH <sub>4</sub> 0,5%; Ácido cítrico 10,0% para a especiação; KI 6,0% para a determinação total; HCl 0,75 mol L <sup>-1</sup> , Vazões 2,0 mL min <sup>-1</sup>   | 0,05 µg L <sup>-1</sup> Sb(III) e 0,11 µg L <sup>-1</sup> Sb(Total)  | 9,3%   | Este trabalho                    |
| HPLC-HG-AFS | PRP-X100 eluição gradiente EDTA/KHP; HCl 3 mol L <sup>-1</sup> ; NaBH <sub>4</sub> 3,0 %   | 0,07 µg L <sup>-1</sup> Sb(III) e 0,13 µg L <sup>-1</sup> Sb(V)  | 5%   | De Gregori <i>et al.</i> , 2005. |
| HG-ICP-AES  | HCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> , NaBH <sub>4</sub> 1%<br>L-cysteina 3 mgmL <sup>-1</sup> , Chelex 100 resin column<br>Vazões: amostra 3,2 mL min <sup>-1</sup> e NABH <sub>4</sub> 2,4 mL min <sup>-1</sup>   | 1,2 ng mL <sup>-1</sup> Sb(III) e 4,5 ng mL <sup>-1</sup> Sb(V)  | Não apresenta  | Feng <i>et al.</i> , 1999        |
| ETV-ICP OES | Sb Total pré-redução com L-Cysteína 0,5%, Extração e pré-concentração em ponto nuvem,  | 0,09 µg L <sup>-1</sup>  | 4,3%   | Li <i>et al.</i> , 2006          |
| HG AFS      | 50% KI e 10% ácido ascórbico<br>NaBH <sub>4</sub> concentração na relatada   | 0,7 ng g <sup>-1</sup> Sb(III) e 1,0 ng g <sup>-1</sup> Sb(T)  | 4% Sb(III) e 5% Sb(T)  | Reyes <i>et al.</i> , 2009       |
| HG AAS      | NaBH <sub>4</sub> 0,7%; HCl 3,5 mol/L KI 50% e ácido ascórbico 10%   | 3,0 ngL <sup>-1</sup> Sb(III) e 5,5 ng L <sup>-1</sup> Sb(V)   | 5,1% Sb(III) e 3,8% Sb(V)  | Ferreira <i>et al.</i> , 2009.   |
| HG AFS      | 4% ácido cítrico em 1,5 mol L <sup>-1</sup> de HCl, NaBH <sub>4</sub> 1,5 e 0,7%; KI 1,5% em 0,3% de ácido ascórbico   | Em NaBH <sub>4</sub> 1,5% 0,042 µg L <sup>-1</sup> Sb(III) e 0,02 µg L <sup>-1</sup> Sb(T)<br>Em NaBH <sub>4</sub> 0,7% 0,017 µg L <sup>-1</sup> Sb(III) e 0,01 µg L <sup>-1</sup> Sb(T) | Em NaBH <sub>4</sub> 1,5% 8.7% Sb(III) e 4,3% Sb(T)<br>Em NaBH <sub>4</sub> 0,7% 2,5% Sb(III) e 2,4% Sb(T) | Fuentes <i>et al.</i> , 2003     |
| HG AAS      | A cada 3 mL de amostra - 3mL de KI 2% e 4,0 ml de 4 mol dm <sup>-3</sup> de HCl, para Sb(T) e 4mL de ácido cítrico 6% para Sb(III), a 3% NaBH <sub>4</sub> - determinação pelo método de adição de padrão. | 13,3 e 8,35 ng g <sup>-1</sup> for Sb(III) e Sb(T), respectivamente  | Não apresentado  | Guntifias <i>et al.</i> , 1991   |
| HG ICP OES  | NaBH <sub>4</sub> 0,4% e HCl 0,8 mol/L e etapa de pré-redução 30 minutos de contato com 1% de KI em 0,2 % de ácido ascórbico   | 1,1 µg L <sup>-1</sup> Sb(III)   | Não apresentado  | Depoi e Pozebon, 2012.           |

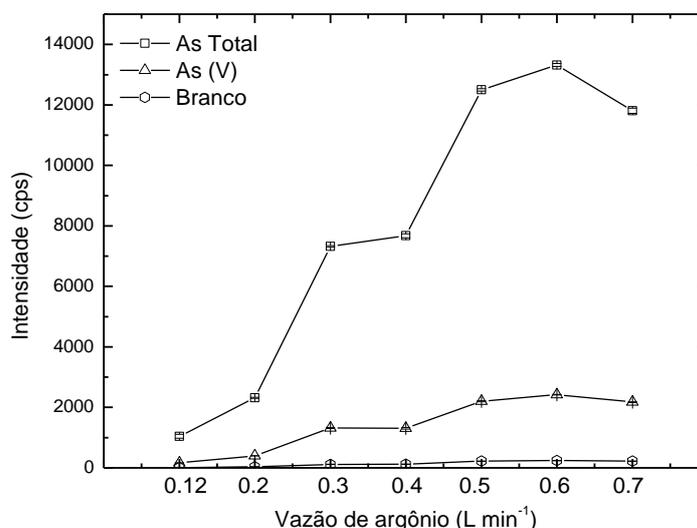
## 5.2. Otimização das condições para a determinação de As

De maneira semelhante ao antimônio, foram otimizadas as condições experimentais para a determinação e especiação do arsênio. Inicialmente foi empregado o sistema de geração de hidretos que havia sido otimizado para o antimônio, conforme apresentado na Figura 13. Outros dois parâmetros otimizados ao longo do estudo com o antimônio também foram mantidos para esta etapa do trabalho, sendo eles: potência de radiofrequência em 1300 W e o uso de duas bobinas de reação.

Na etapa de otimização das variáveis escolhidas, os parâmetros inicialmente estudados foram os otimizados para o antimônio, no qual foram utilizadas as seguintes condições: HCl 0,75 mol L<sup>-1</sup>, NaBH<sub>4</sub> 0,50 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH, ácido cítrico 10,0 % (m/v) e 200 µg L<sup>-1</sup> de arsênio de As (III) e As (V).

### 5.2.1. Vazão do gás de nebulização

Inicialmente foi otimizada a vazão do gás de nebulização, sendo os resultados apresentados na Figura 22. Para este estudo foram utilizadas soluções padrão de As (V) em concentração de 200 µg L<sup>-1</sup> e solução padrão de As total de 400 µg L<sup>-1</sup>, que consiste de uma mistura de As(III) e As(V) ambos em concentração de 200 µg L<sup>-1</sup>. De forma análoga ao procedimento utilizado para o antimônio, na análise de especiação do arsênio também é necessário o uso de condições experimentais que permitam a determinação apenas do As(III) na presença de As(V), para isso optou-se em utilizar o ácido cítrico com o objetivo de avaliar a possibilidade desse reagente complexar o As(V), permitindo a especiação das espécies.



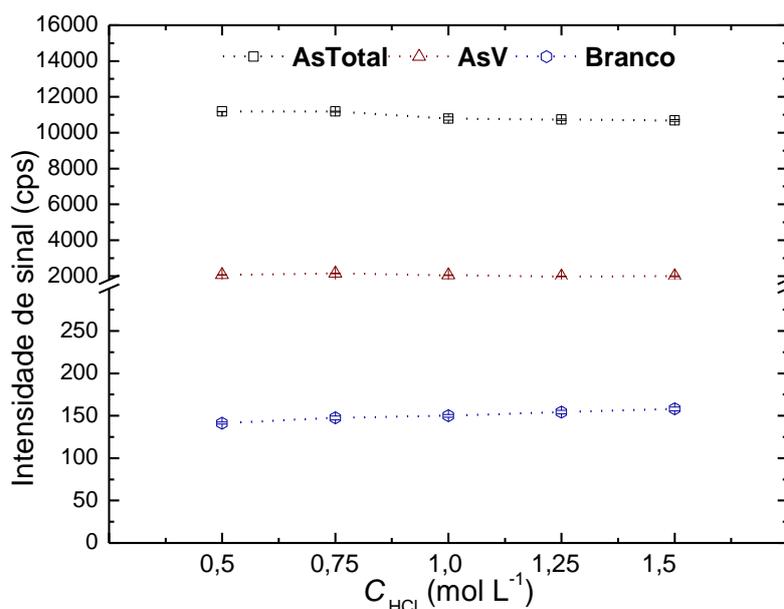
**Figura 22.** Variação na intensidade de sinal em diferentes vazões de gás de nebulização. (RF 1300 W;  $C_{As}$  100 µg L<sup>-1</sup>;  $C_{As\ total}$  200 µg L<sup>-1</sup> (100 µg L<sup>-1</sup> As(III) + 100 µg L<sup>-1</sup>

As(V) );  $C_{\text{NaBH}_4}$  0,10 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH;  $C_{\text{HCl}}$  0,75 mol L<sup>-1</sup>;  $C_{\text{ácido cítrico}}$  10,0 % (m/v); vazões de reagentes e amostras 2,0 mL min<sup>-1</sup>;  $n=3$ ; 189,042 (l) nm).

Conforme observado na Figura 22, houve um significativo aumento no sinal analítico com aumento na vazão de argônio, resultado semelhante ao observado para o antimônio. O melhor sinal analítico foi obtido para a vazão de 0,60 L min<sup>-1</sup>, seguido de um declive do sinal para a vazão superior estudada. O decréscimo do sinal analítico observado pode estar associado ao aumento da pressão interna que leva à perda do analito ou ainda ao comprometimento da reação devido ao arraste mais rápido das espécies.

### 5.2.2. Concentração da solução transportadora (HCl)

A concentração da solução transportadora (HCl) também foi otimizada, sendo os resultados apresentados na Figura 23.



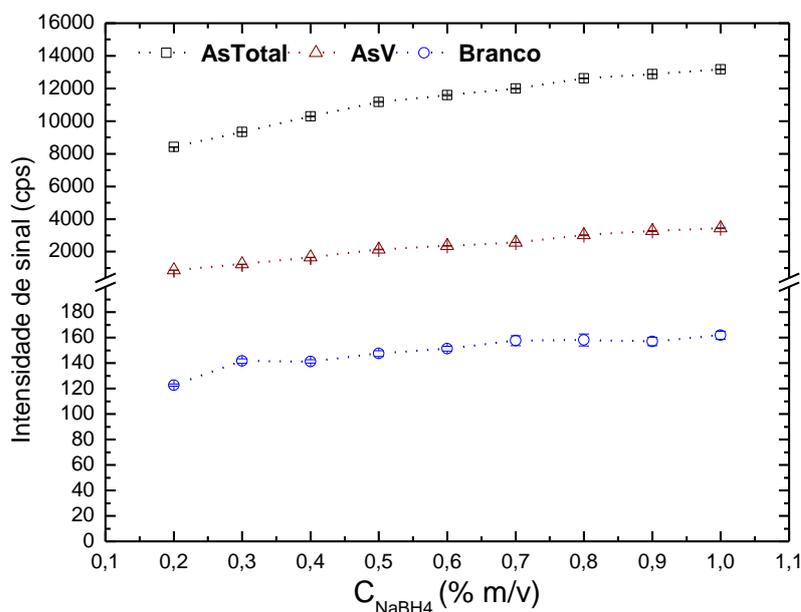
**Figura 23.** Avaliação da influência da concentração de HCl sobre o sinal analítico (RF 1300 W;  $C_{\text{As}}$  100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{\text{As total}}$  200  $\mu\text{g L}^{-1}$  (100  $\mu\text{g L}^{-1}$  As(III) + 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  As(V));  $C_{\text{NaBH}_4}$  0,10 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH;  $C_{\text{ácido cítrico}}$  10,0 % (m/v); vazão de Ar 0,6 L min<sup>-1</sup> vazões de reagentes e amostras 2,0 mL min<sup>-1</sup>;  $n=3$ ; 189,042 (l) nm).

Conforme constatado, o sinal mantém-se relativamente constante para as diferentes concentrações de HCl estudadas. Diferentemente do observado para o antimônio, nas concentrações de ácido estudadas e na presença de 10,0 % de ácido cítrico (complexante) foi observado um alto sinal para o As(V), isso porque a especiação do As(III) e As(V) é altamente dependente do pH do meio, sendo que a presença de HCl

favorece a geração de hidretos a partir de As(V) (GONZÁLEZ *et al.*, 2003). A concentração de HCl de  $0,50 \text{ mol L}^{-1}$  foi adotada para a condução das próximas etapas em virtude dos sinais relativamente constantes que foram observados.

### 5.2.3. Concentração do agente redutor ( $\text{NaBH}_4$ )

Outro fator de grande importância é a concentração do redutor, para o qual foram avaliadas concentrações de  $\text{NaBH}_4$  entre 0,20 e 1,00 % (m/v), todas preparadas em meio de NaOH 0,10 % (m/v). Os resultados são apresentados na Figura 24, e mostram a tendência do sinal analítico referente ao hidreto formado frente às diferentes concentrações de  $\text{NaBH}_4$  utilizadas durante o estudo. Foram empregadas diferentes soluções, uma contendo  $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  de As(V) e outra contendo concentrações iguais ( $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) de ambas as espécies (As(III) + As(V)).



**Figura 24.** Influência da concentração do agente redutor sobre o sinal analítico do  $\text{AsH}_3$  (RF 1300 W;  $C_{\text{As}}$   $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{\text{As total}}$   $200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  ( $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  As(III) +  $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  As(V));  $C_{\text{HCl}}$   $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ ;  $\text{NaBH}_4$  em 0,10 % (m/v) de NaOH;  $C_{\text{ácido cítrico}}$  10,0 % (m/v); vazão de Ar  $0,6 \text{ L min}^{-1}$  vazões de reagentes e amostras  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ ;  $n = 3$ ; 189,042 (I) nm).

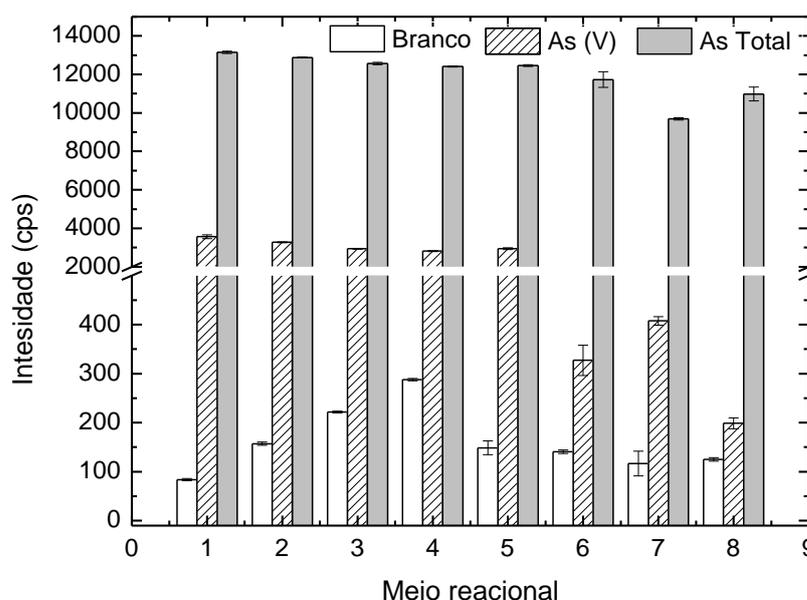
De acordo com a Figura 24, pode-se notar um incremento no sinal analítico tanto para a solução contendo As total como para a que continha apenas As(V). Optou-se em utilizar nas etapas futuras a concentração de 0,90 % (m/v), visto que, para a concentração superior, apesar de ser possível a quantificação do analito, causou uma considerável instabilidade no plasma, o que levou à sua extinção. Porém, esse valor está de acordo com valores relatados na literatura, sendo que a faixa de concentração utilizada em sistemas em fluxo varia de 0,50 a 1,00 % (m/v) (DEDINA e TSALEV, 1995).

### 5.2.4. Meio reacional para o estudo de especiação

Devido ao objetivo na especiação das espécies inorgânicas de arsênio, foram estudados diferentes meios reacionais para a especiação de As(III) e As(V). Conforme relatado na literatura, são apresentados diferentes meios reacionais para o estudo de especiação do analito, sejam eles contendo agentes complexantes ou meios de tampão de ácidos orgânicos (DEDINA e TSALEV, 1995; SAMANTA *et al.*, 1999; GONZÁLEZ *et al.*, 2003; SHI *et al.*, 2003; MAITY *et al.*, 2004; MACEDO *et al.*, 2010). Dessa forma, foi avaliado o sinal de As(V) em diferentes meios reacionais citados na literatura, sendo eles:

- 1 - 10 % de ácido cítrico mais solução carreadora (HCl 0,50 mol L<sup>-1</sup>);
- 2 - 20 % de ácido cítrico mais solução carreadora (HCl 0,50 mol L<sup>-1</sup>);
- 3 - 30 % de ácido cítrico mais solução carreadora (HCl 0,50 mol L<sup>-1</sup>);
- 4 - 40 % de ácido cítrico mais solução carreadora (HCl 0,50 mol L<sup>-1</sup>);
- 5 - pH 3,0 tamponado com ácido cítrico (40,0 %) / citrato de sódio, mais solução carreadora (HCl 0,50 mol L<sup>-1</sup>);
- 6 - pH 3,0 tamponado com ácido cítrico (40,0 %) / citrato de sódio;
- 7 - pH 4,5 tamponado com ácido cítrico (40,0 %) / citrato de sódio, mais solução carreadora (HCl 0,50 mol L<sup>-1</sup>);
- 8 - em pH 4,5 em meio de ácido cítrico (40,0 %) e citrato de sódio.

Os sinais analíticos obtido para cada meio reacional citado acima estão apresentados na Figura 25.



**Figura 25.** Otimização do meio reacional para a etapa de especiação (RF 1300 W;  $C_{As}$  100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{As\ total}$  200  $\mu\text{g L}^{-1}$  (100  $\mu\text{g L}^{-1}$  As(III) + 100,00  $\mu\text{g L}^{-1}$  As(V));  $C_{NABH_4}$  0,90% (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH; vazão de Ar 0,6 L min<sup>-1</sup> vazões de reagentes e amostras 2,0 mL min<sup>-1</sup>;  $n=3$ ; 189,042 (l) nm).

É possível notar a elevada influência do meio reacional no estudo de especiação, para o qual foi verificado que a presença de maiores concentrações de complexante proporcionou uma diminuição no sinal da espécie de As(V) até próximo do sinal da prova em branco para o meio tamponante em pH 4,5. É possível inferir que o melhor meio para a especiação de As(III) e As(V) ocorreu em meio de pH 4,5, com tampão citrato/ácido cítrico e sem a presença da solução de HCl 0,50 mol L<sup>-1</sup> (condição 8), de acordo com os menores sinais obtidos para o As(V), além dos baixos desvios observados. Resultado semelhante foi observado na literatura (GONZÁLEZ *et al.*, 2003). Este resultado difere daquele observado para o antimônio e é corroborado pela literatura, que relata que a especiação do arsênio apresenta uma maior influência do pH e não apenas da utilização de agente complexante (DEDINA e TSALEV, 1995; GONZÁLEZ *et al.*, 2003; SHI *et al.*, 2003; MAITY *et al.*, 2004; MACEDO *et al.*, 2010), que neste caso, pode dificultar a etapa de especiação.

#### **5.2.5. Otimização do meio para a pré-redução do As(V) a As(III)**

Na literatura, tem sido relatada a necessidade de uma etapa de pré-redução do As(V) para As(III) visando a determinação total desse analito e, para isso, diferentes reagentes têm sido utilizados, tais como L-cisteína (SHI *et al.*, 2003), KI e ácido ascórbico (GONZÁLEZ *et al.*, 2003; MACEDO *et al.*, 2010; NÄYKKI *et al.*, 2011), KI (CAVA-MONTESINOS *et al.*, 2003) e tioureia (MATUSIEWICZ e ŚLACHCIŃSKI, 2010). Com base nisso, foram avaliados diferentes meios reacionais. Na Tabela 9 são apresentados os meios reacionais e a razão entre o sinal analítico obtido para as soluções contendo concentrações iguais para espécies As(III) e As(V), individualmente. O objetivo em se trabalhar com a razão consiste em determinar o meio que permite obter a menor diferença para a formação de hidreto a partir de ambas espécies.

**Tabela 9.** Otimização da etapa de pré-redução de As(V) (RF 1300 W;  $C_{As}$  100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{\text{NaBH}_4}$  0,90% (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH; vazão de Ar 0,6 L  $\text{min}^{-1}$  vazões de reagentes e amostras 2,0 mL  $\text{min}^{-1}$ ;  $n = 3$ ; 189,042 (l) nm).

| Solução  | Cps <sup>1</sup> As(III) | Cps <sup>1</sup> As(V) | Razão As(III)/As(V) |
|--|--------------------------|------------------------|---------------------|
| HCl 0,50 mol L <sup>-1</sup>                             | 1007 ± 5                 | 349 ± 3                | 2,9                 |
| HCl 0,50 mol L <sup>-1</sup> + 1,0 % KI                  | 558 ± 14                 | 244 ± 4                | 2,3                 |
| HCl 0,50 mol L <sup>-1</sup> + 20,0 % KI                 | 683 ± 8                  | 263 ± 4                | 2,6                 |
| HCl 0,50 mol L <sup>-1</sup> + 50,0 % KI                 | 750 ± 7                  | 315 ± 4                | 2,4                 |
| HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup>                              | 832 ± 12                 | 650 ± 7                | 1,3                 |
| HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup> + 1,0 % KI                   | 516 ± 23                 | 394 ± 5                | 1,3                 |
| HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup> + 20,0 % KI                  | 551 ± 7                  | 446 ± 6                | 1,2                 |
| HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup> + 50,0 % KI                  | 688 ± 11                 | 566 ± 5                | 1,2                 |
| HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup> + 1,0 % KI + bobina (50 cm)  | 514 ± 3                  | 444 ± 3                | 1,2                 |
| HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup> + 50,0 % KI + bobina (50 cm) | 539 ± 2                  | 465 ± 5                | 1,2                 |

<sup>1</sup>Cps:Contagens por segundo

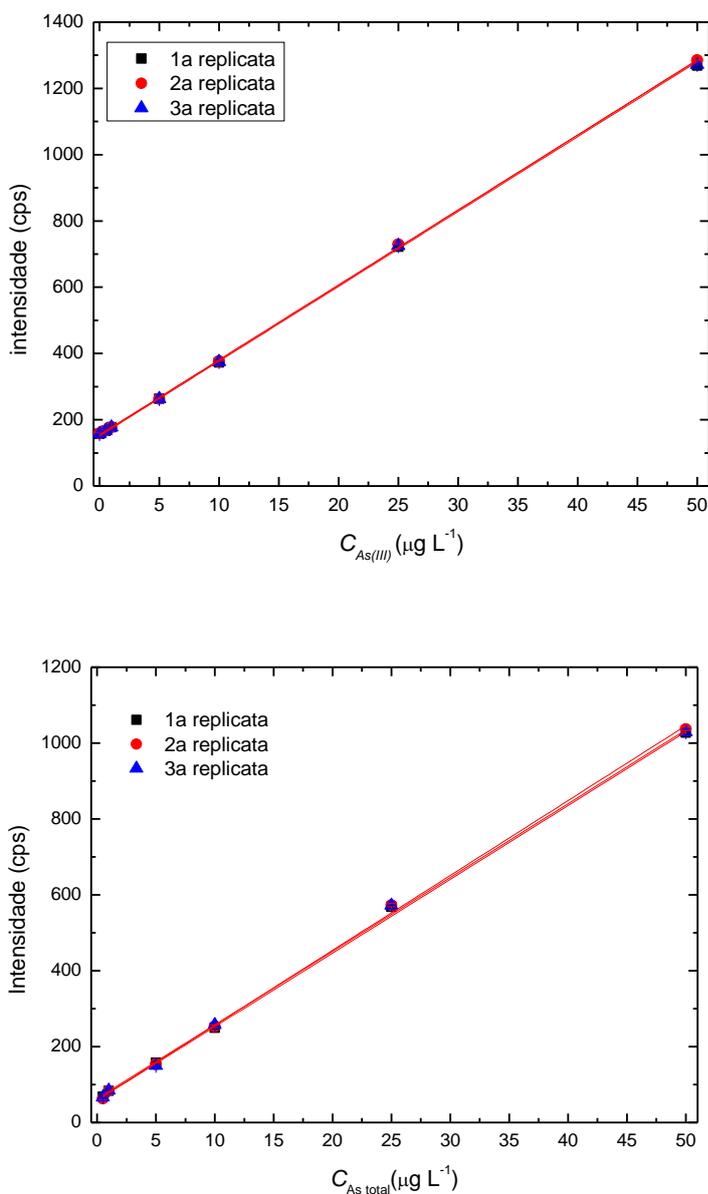
Com os resultados mostrados na Tabela 9, é possível observar uma diminuição do sinal analítico para a solução com HCl 5,0 mol L<sup>-1</sup> + KI, quando comparado com o sinal obtido para os analitos na presença apenas de HCl 5,0 mol L<sup>-1</sup>, sugerindo que o excesso deste pode estar alterando o meio de reação de modo a afetar a formação de AsH<sub>3</sub>. Esse efeito pode ser observado devido ao decréscimo de 1,6 vezes do sinal para o arsênio na sua totalidade na presença de KI. Outro fator estudado foi o efeito do uso de bobina de reação sobre o sinal, a qual também não acarretou aumento no sinal analítico. Dessa forma, a solução contendo apenas HCl 5,0 mol L<sup>-1</sup> seria a mais adequada, sem a necessidade do agente de pré-redução. Aggett e Aspell, 1976, obtiveram resultados satisfatórios para geração de AsH<sub>3</sub> a partir de As(V) em meio de solução de HCl, indicando que apenas o controle do pH seria suficiente para a determinação total ou da espécie de interesse, corroborando os resultados do presente estudo.

### 5.2.6. Figuras de mérito

Após o término da etapa de otimização, as variáveis estudadas foram fixadas em: vazão do gás de nebulização (Ar) em 0,60 L  $\text{min}^{-1}$ , concentração de NaBH<sub>4</sub> em 0,90 % (m/v) em solução de NaOH 0,10 % (m/v), tampão de ácido cítrico (40%) ajustado com hidróxido de sódio em pH 4,5 na etapa de especiação de As(III) na presença de As(V) e

concentração de HCl em  $5,0 \text{ mol L}^{-1}$  na etapa de determinação de arsênio inorgânico total.

Com o sistema otimizado, a próxima etapa consistiu em avaliar algumas figuras de mérito, para o qual foram avaliados alguns dos parâmetros estipulados na orientação do INMETRO (INMETRO, 2011). O primeiro parâmetro avaliado foi a faixa de trabalho do método com base na equação de regressão linear. Para tal, foram preparadas três curvas analíticas com concentrações entre  $0,50$  e  $50,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  para o As(III) apresentadas na Figura 26.



**Figura 26.** Curvas analíticas obtidas para a avaliação da faixa de trabalho para arsênio. (As (III) em 26A e As(Total) em 26B; Tampão ácido cítrico (40,0 % m/v) / citrato de sódio em pH 4,5 – As(III);  $C_{\text{HCl}} 5,0 \text{ mol L}^{-1}$  – As(Total);  $\text{NaBH}_4$  0,90% (m/v) em NaOH 0,10% (m/v); RF 1300 W; vazão de Ar  $0,60 \text{ L min}^{-1}$ ; 2 bobinas de reação, vazão de entrada de  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$  das soluções de As, do ácido cítrico e do  $\text{NaBH}_4$ ;  $n= 3$ ; 189,042 (l) nm).

De acordo com a Figura 26, uma linearidade apropriada foi constatada quando levada em consideração cada uma das curvas analíticas. Também foi possível observar que as triplicatas em cada uma das figuras estão praticamente sobrepostas, indicando uma adequada repetitividade. Os valores dos  $r^2$  e as respectivas equações das curvas analíticas foram determinados e estão apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10.** Dados obtidos pelas curvas analíticas apresentadas na Figura 26.

|                 | Curva | $r^2$  | Equação da curva analítica     |
|-----------------|-------|--------|--------------------------------|
| <b>As (III)</b> | 1     | 0,9998 | $I = 154,43 + 22,60C_{AsIII}$  |
|                 | 2     | 0,9995 | $I = 150,90 + 22,58C_{AsIII}$  |
|                 | 3     | 0,9987 | $I = 154,01 + 22,64C_{AsIII}$  |
| <b>As total</b> | 1     | 0,9993 | $I = 62,97 + 19,43C_{AsTotal}$ |
|                 | 2     | 0,9990 | $I = 59,14 + 19,73C_{AsTotal}$ |
|                 | 3     | 0,9967 | $I = 58,05 + 19,44C_{AsTotal}$ |

*I*: Intensidade de emissão em contagens por segundo (cps); *C*: Concentração

É importante ressaltar que menores valores de concentração da curva analítica foram investigados e, novamente, não apresentaram diferenças significativas em relação ao sinal obtido para a prova em branco, indicando não ser possível diminuir o limite de quantificação. Concentrações mais elevadas também foram estudadas (não apresentadas), para as quais verificou-se a possibilidade de trabalho até  $300,0 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Entre os pontos considerados na curva - além de uma linearidade adequada (Tabela 10) - os valores dos coeficientes lineares e angulares também foram concordantes, sugerindo uma boa repetitividade.

Assim como para o estudo com o Sb, também foram avaliados os valores de LOD e LOQ de acordo com o INMETRO (INMETRO, 2011), e os resultados apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11.** LOD e LOQ obtidos a partir dos parâmetros das curvas analíticas. Os valores entre parênteses denotam a concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) que foi considerada.

| Parâmetros   | As (III)         | As Total       |
|--|------------------|----------------|
| Inclinação ( $\text{L } \mu\text{g}^{-1}$ )              | $22,61 \pm 0,03$ | $19,5 \pm 0,2$ |
| Estimativa de desvio padrão (s)                          | 0,9              | 0,6            |
| LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )                             | 0,12             | 0,09           |
| LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )                             | 0,40             | 0,31           |
| RSD (%) máximo / (Concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | 3 / (50)         | 7,7 / (1,00)   |
| RSD (%) mínimo / (Concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | 0,5 / (0,5)      | 0,40 / (200)   |

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 11, foi observado que o método proposto apresentou uma detectabilidade satisfatória, bem como baixos valores de RSD, indicando que o método poderia ser empregado para a quantificação e especificação de As.

A exatidão do método foi avaliada com base na adição e recuperação sobre amostras de água salgada proveniente da baía da Babitonga, Joinville-SC e de arroz, sendo os resultados obtidos apresentados na Tabela 12. Para o estudo de recuperação foram realizadas adições de solução padrão antes do procedimento de extração ou determinação, e a concentração das adições, apresentadas na tabela, foram as consideradas juntamente com as concentrações reais das amostras, ou seja, aquelas obtidas para as amostras sem as adições de solução padrão. É importante ressaltar que os valores de RSD obtidos para o estudo foram entre 0,1 e 9,5 %.

**Tabela 12.** Resultados obtidos para a determinação de As a partir de amostras reais.

| <b>Amostras</b>          | <b>CAs(III)</b> | <b>RSD (%)</b> | <b>C As(total)</b> | <b>RSD (%)</b> | <b>Adição 1<br/>As(III) – As(T)</b> | <b>R (%)</b> | <b>Adição 2<br/>As(III) – As(T)</b> | <b>R (%)</b> |
|--------------------------|-----------------|----------------|--------------------|----------------|-------------------------------------|--------------|-------------------------------------|--------------|
| Água estuarina           | <LOQ            |                | 0,45               | 17,0           | 10,0 – 20,45 <sup>a</sup>           | 104,5 – 106  | 25,0 – 50,45                        | 108,2 - 101  |
| Arroz – US               | 0,02            | 19,9           | 0,013              | 9,5            | 0,202 – 0,41 <sup>b</sup>           | 85,1 – 72,9  | 0,47 – 0,81                         | 86,7 – 110,2 |
| Arroz – assistido por US | <LOQ            |                | 0,070              | 6              | 0,67 – 1,40 <sup>b</sup>            | 90,0 – 91,8  | 1,67 – 3,40                         | 109,6 – 83,2 |
| Arroz - MAE              | 0,06            | 1,3            | 0,098              | 13             | 0,73 – 1,44 <sup>b</sup>            | 89,2 – 101,3 | 1,73 – 3,43                         | 98,0 – 104,0 |

Adição 1: 10 µg L<sup>-1</sup> As(III) e As(V); Adição 2: 25 µg L<sup>-1</sup>As(III) e As(V); <sup>a</sup> µg L<sup>-1</sup>; <sup>b</sup>µg g<sup>-1</sup>; LOQ: 0,31 e 0,40 µg L<sup>-1</sup>, para As total e As(III), respectivamente.

Com base nos resultados apresentados na Tabela 12, foi possível constatar uma exatidão adequada com valores de recuperação de 72,9 % a 110,2 %, bem como boa precisão de acordo com os valores de RSD. Também foi possível verificar a adequação dos métodos de extração utilizados com base nos bons valores de recuperação para as duas espécies As(III) e As(V), indicando que não ocorre a conversão entre as espécies. Entre os três métodos utilizados, o método por MAE apresentou melhores resultados, para o qual os valores se aproximaram mais de 100 %, sugerindo uma melhor exatidão, além do menor tempo necessário para o preparo da amostra quando comparado com os demais procedimentos estudados. Também é importante ressaltar que não ocorreu conversão entre as espécies nos diferentes procedimentos de extração aplicados, com base nos valores de recuperação obtidos para o estudo. Cabe destacar que as adições das fortificações ocorreram, em todos os casos, antes do preparo da amostra, ou seja, antes da etapa de extração seja por microondas ou por ultrassom, de modo a garantir que todas as espécies presentes permanecessem sob as mesmas condições.

O valor de LOQ obtido também permite atender à norma da U.S. Food and Drug Administration (FDA), cujo valor máximo permitido de arsênio é de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ; do CONAMA 357/2005, cujo valor para a classe 1 de águas salinas é de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ; e ANVISA 42/2013, cujo valor máximo permitido de arsênio total para o arroz é de  $0,30 \text{ mg kg}^{-1}$ . Com os dados obtidos para as amostras reais, novamente é indicativa a adequação do método e se mostra comparável a outros trabalhos apresentados pela literatura (ULUSOY *et al.*, 2011; CHANDRASEKARAN *et al.*, 2010; SUN *et al.*, 2007).

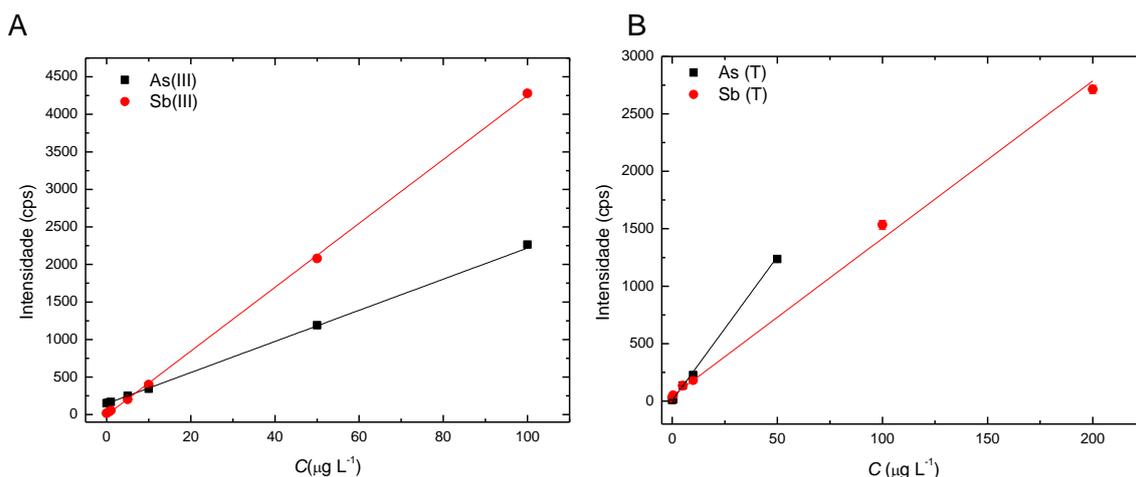
Quando são comparados os parâmetros de mérito obtidos neste trabalho com outros apresentados na literatura (Tabela 13), é possível observar que os limites obtidos no presente estudo se destacam frente a métodos que envolvem e fazem uso de aparatos analíticos mais sofisticados, reforçando a adequação do método proposto.

**Tabela 13.** Comparação dos parâmetros para arsênio obtidos neste trabalho com os apresentados na literatura.

| Método                                   | Reagentes   | LOD   | RSD                             | Referências                          |
|--|---|---|---------------------------------|--------------------------------------|
| CVG-ICP-OES                              | NaBH <sub>4</sub> 0,9%; Ácido cítrico 40,0% em pH 4,5; pré-redução com HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup> .  | 0,12 µg L <sup>-1</sup><br><sup>1</sup> As(III)                                 | 1,2%<br>As(III)                 | Este trabalho                        |
| FAAS                                     | Pironina B na presença de cloreto de cetilpiridínio (CPC), a pH 8,0 extração com Triton X-114, 1,0 mol L <sup>-1</sup> de HNO <sub>3</sub> em metanol | 1,67 µg L <sup>-1</sup><br>As(V)  | 4,1%                            | Ulusoy <i>et al.</i> , 2011.         |
| FI-HG-ICP-MS                             | NaBH <sub>4</sub> 3,0%, HNO <sub>3</sub> 6,0%, coluna PANI  | 0,05 µg L <sup>-1</sup><br><sup>1</sup> As(III) e 0,09 µg L <sup>-1</sup> As(V) | 2,0%<br>As(III) e 2,5%<br>As(T) | Chandrasekaran <i>et al.</i> , 2010. |
| HPLC-UV/nano-TiO <sub>2</sub> -HG-ICP-MS | NaBH <sub>4</sub> 1,0%, HCl, pré-redutor Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> 0,5%   | 0,37 µg L <sup>-1</sup><br>As(III) e 0,22 µg L <sup>-1</sup> As(V)              | 10%                             | Sun <i>et al.</i> , 2007             |

### 5.3. Estudo para a análise de especiação simultânea de As e Sb

Após a determinação das melhores condições analíticas e avaliação das figuras de mérito dos métodos de geração de hidretos para os analitos As e Sb, foi conduzido um estudo com o intuito de realizar a análise de especiação simultânea de As e Sb. Para isso, foram fixados os seguintes parâmetros: 0,9 % (m/v) de NaBH<sub>4</sub> em 0,10 % (m/v) de NaOH, HCl 0,50 mol L<sup>-1</sup>, solução tampão de ácido cítrico (40% (m/v)) / citrato de sódio em pH 4,5. Essas condições foram baseadas nos métodos propostos para As e Sb individualmente. Com a condição definida, preparou-se uma curva analítica de 0,50 a 200, µg L<sup>-1</sup>. As curvas são apresentadas na Figura 27 e na Tabela 14.



**Figura 27.** Curvas analíticas para avaliação da linearidade – especificação de As(III) e Sb(III) (A); Determinação de As e Sb total (B). Solução tampão de ácido cítrico (40%)/citrato pH em 4,5; NaBH<sub>4</sub> 0,90% (m/v) em NaOH 0,10% (m/v); RF 1300 W; vazão de Ar 0,6 L min<sup>-1</sup>; 2 bobinas de reação, vazão de entrada das soluções de 2,0 mL min<sup>-1</sup>. Solução As e Sb Total – 50%(III) e 50%(V).

**Tabela 14.** Linearidades e recuperações para o estudo de especificação simultânea.

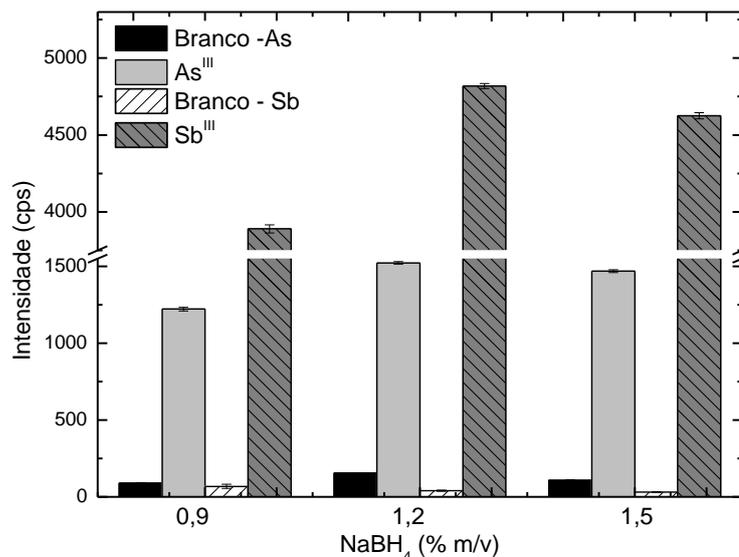
|                                       | <b>As (III)</b> | <b>As total</b> | <b>Sb (III)</b> | <b>Sb total</b> |
|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <b>Inclinação (L μg<sup>-1</sup>)</b> | 20,234          | 25,021          | 42,538          | 13,721          |
| <b>r<sup>2</sup></b>                  | 0,9980          | 0,9969          | 0,9992          | 0,9906          |

Com este estudo preliminar, pode-se inferir que é possível conduzir simultaneamente a análise de especificação dos analitos As(III) e Sb(III), devido à similaridade das condições analíticas para a determinação individual das espécies. A análise de especificação simultânea é de grande importância para análises rotineiras por proporcionar um aumento na frequência analítica.

### 5.3.1. Otimização da etapa de redução e pré-redução

Apesar da adequação do método, duas situações foram otimizadas de modo a obter uma melhor detectabilidade. Para isso, foram avaliadas a concentração do NaBH<sub>4</sub>, reagente de grande importância para a formação de hidretos, e a etapa de pré-redução, importante para garantir uma efetiva conversão das espécies e sua possível quantificação total.

O primeiro parâmetro avaliado foi a concentração de NaBH<sub>4</sub>. Iniciou-se o estudo com a concentração de 0,9% (m/v) utilizada no estudo anterior e previamente otimizada para o método envolvendo o As; os resultados estão apresentados na Figura 28. Nesta etapa do estudo, foram utilizadas as seguintes condições: ácido cítrico (40,0 % (m/v) / citrato de sódio em pH 4,5, As(III) e Sb(III) 200 μg L<sup>-1</sup>, vazão de Ar 0,6 L min<sup>-1</sup>.



**Figura 28.** Otimização da concentração de NaBH<sub>4</sub> para a análise de especiação simultânea de As e Sb (NaOH 0,10 % (m/v), ácido cítrico (40,0 % (m/v) / citrato de sódio em pH 4,5, As e Sb 200 µg L<sup>-1</sup>, vazão de Ar 0,6 L min<sup>-1</sup>; vazão de entrada dos reagentes e amostra 2,00 mL min<sup>-1</sup>; RF 1300 W.)

Com o resultado é possível notar um incremento do sinal com o aumento da concentração de NaBH<sub>4</sub> para 1,2 % (m/v); isso mostra a importância na etapa de geração de hidretos. Em concentração superior, ocorreu um decréscimo no sinal analítico devido ao arraste de umidade provocado pelo excesso do reagente no separador de fases. Esse excesso ocasionou uma turbulência que está associada à grande produção de hidrogênio no interior do separador, comprometendo a separação efetiva.

Em relação à etapa de pré-redução, ao comparar os métodos individuais de As e Sb, nota-se que as condições são distintas: HCl 0,50 mol L<sup>-1</sup> para As e KI 6,0 % para Sb. Para isso, fez-se uso da combinação das condições para a pré-redução de cada espécie; os meios utilizados e os resultados são mostrados na Tabela 15.

**Tabela 15.** Concentração de pré-redutor e efeito sobre a razão entre as espécies.

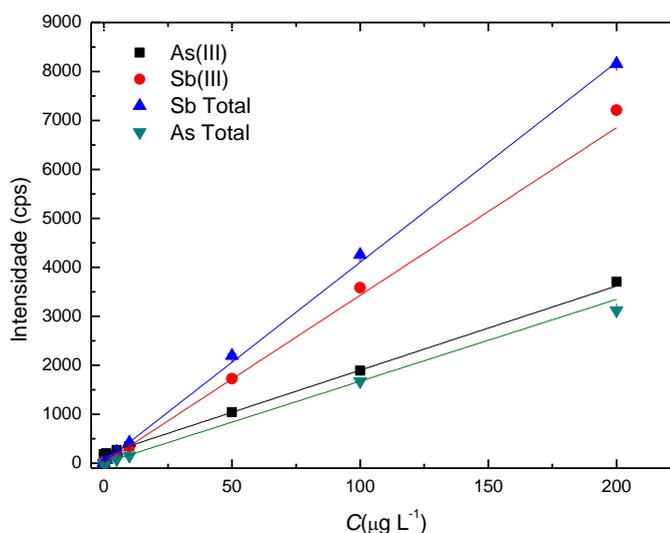
| Reagentes                               | As (III) / As (V) | Sb (III) / Sb (V) |
|---|-------------------|-------------------|
| HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup>             | 0,287             | 1,848             |
| HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup> + 1,0 % KI  | 0,679             | 2,561             |
| HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup> + 5,0 % KI  | 0,645             | 0,817             |
| HCl 5,0 mol L <sup>-1</sup> + 10,0 % KI | 0,507             | 0,641             |

Com os dados apresentados na Tabela 15, verificou-se a necessidade da presença de um pré-redutor que se deve, principalmente, à presença do antimônio e está de acordo com a literatura, na qual há relatos da necessidade de um pré-redutor para que ocorra, primeiramente, a conversão de Sb(V) para Sb(III) e posterior formação de SbH<sub>3</sub>

(CAMPBELL, 1992; FENG *et al.*, 1999). A concentração de 10,0 % (m/v) de KI apresentou os melhores resultados, que foram avaliados com base na diferença de sinal entre as espécies e, novamente, confere com o apresentado na literatura (FLORES *et al.*, 2002). Para a determinação total de arsênio, a presença do pré-redutor aumentou a diferença no sinal das espécies As(III) e As(V) visto a razão entre as espécies apresentada na Tabela 15; porém pode-se inferir que não haverá comprometimento dos resultados. Devido ao interesse na determinação simultânea, optou-se pela utilização do KI 10,0 % (m/v) em conjunto com o HCl 5,0 mol L<sup>-1</sup> na etapa de pré-redução das espécies, com base na literatura (DEDINA e TSALEV, 1995).

### 5.3.2. Figuras de mérito

Com o procedimento para a determinação total das espécies otimizado, foram determinados os parâmetros de mérito de linearidade, LOD e LOQ. Também foram preparadas três curvas analíticas de 0,50 a 50,0 µg L<sup>-1</sup>. Os resultados são apresentados na Figura 29 e suas equações e parâmetros na Tabela 16, sendo ambos obtidos pelos valores médios das triplicatas dos pontos da curvas analíticas.



**Figura 29.** Curvas analíticas obtidas para a avaliação de linearidade do As (III) e Sb (III) (NaBH<sub>4</sub> 1,2 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH; para a especiação - ácido cítrico (40,0 % (m/v) / citrato de sódio em pH 4,5; para a determinação total – KI 10,0% (m/v), C<sub>HCl</sub> 5,0 mol L<sup>-1</sup>; As e Sb 200 µg L<sup>-1</sup>, vazão de Ar 0,6 L min<sup>-1</sup>; vazão de entrada dos reagentes e amostra 2,00 mL min<sup>-1</sup>; RF 1300 W).

**Tabela 16.** Equações das curvas analíticas e seus respectivos valores de LOD e LOQ.

| Espécie         | r <sup>2</sup> | Equação da curva analítica      | s     | LOD (µg L <sup>-1</sup> ) | LOQ (µg L <sup>-1</sup> ) |
|-----------------|----------------|---------------------------------|-------|---------------------------|---------------------------|
| <b>As (III)</b> | 0,9996         | $I = 179,42 + 17,21C_{As(III)}$ | 0,669 | 0,12                      | 0,39                      |
| <b>Sb (III)</b> | 0,9992         | $I = 7,76 + 34,23C_{Sb(III)}$   | 1,344 | 0,12                      | 0,39                      |
| <b>As total</b> | 0,9999         | $I = 2,27 + 16,73C_{AsTotal}$   | 0,991 | 0,18                      | 0,59                      |
| <b>Sb total</b> | 0,9995         | $I = 20,22 + 40,84C_{SbTotal}$  | 1,966 | 0,14                      | 0,48                      |

I: Intensidade de emissão em contagens por segundo (cps); C: Concentração; s: desvio de 10 leituras da prova em branco.

Com base nos resultados obtidos, foi possível observar que o método proposto apresentou boa linearidade, com coeficientes de determinação superiores a 0,999 e com limites de detecção e quantificação satisfatórios, indicando que o método pode ser utilizado na análise de especiação simultânea de ambas as espécies. Os limites obtidos nessa etapa do trabalho, semelhante ao que vem sendo obtido por outros trabalhos (Sun *et al.*, 2007; Ulusoy *et al.*, 2011; Depoi e Pozebon, 2012), estão abaixo das legislações vigentes, indicando a adequação do método.

Após a determinação dos primeiros parâmetros de mérito, indicando que o método proposto é adequado para a quantificação das espécies de interesse, seguiu-se com o estudo da precisão e exatidão. Esse estudo foi conduzido com base na adição e recuperação em amostras reais de água comercializada na região de Curitiba-PR e de arroz comercializado e produzido em Joinville-SC, sendo este último preparado pelo método de extração assistido por micro-ondas (MAE). Os valores obtidos são mostrados na Tabela 17. As concentrações das adições apresentadas na tabela foram baseadas nas concentrações obtidas para as amostras sem as adições. É importante ressaltar que os valores de RSD obtidos para o estudo foram entre 0,1 e 10,2 %.

**Tabela 17.** Concentração de espécies de arsênio e antimônio em amostras reais para o estudo de exatidão.

| Amostras                  | Concentração obtida |           | Adição 1        | Recuperação (%) | Adição 2        | Recuperação (%) |
|---------------------------|---------------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                           | As(III)             | As(total) | As(III) – As(T) | As(III) – As(T) | As(III) – As(T) | As(III) – As(T) |
| Água sem gás <sup>a</sup> | <LOD                | 0,25      | 2,5 – 5,25      | 122,0 – 107,0   | 20,0 – 40,25    | 104,6 – 96,5    |
| Água com gás <sup>a</sup> | <LOD                | <LOD      | 2,5 – 5,0       | 98,4 – 106,0    | 20,0 – 40,0     | 96,4 – 103,0    |
| Arroz <sup>b</sup>        | 0,16                | 0,16      | 0,47 – 0,77     | 108,5 – 95,1    | 2,50 – 4,81     | 108,2 – 101,2   |
|                           | Sb(III)             | Sb(total) | Sb(III) – Sb(T) | Sb(III) – Sb(T) | Sb(III) – Sb(T) | Sb(III) – Sb(T) |
| Água sem gás <sup>a</sup> | 0,24                | 0,27      | 2,74 – 5,27     | 116,8 – 99,4    | 20,24 – 40,27   | 108,7 – 99,6    |
| Água com gás <sup>a</sup> | 0,23                | 0,19      | 2,73 – 5,19     | 114,7 – 95,6    | 20,24 – 40,19   | 118,2 – 101,3   |
| Arroz <sup>b</sup>        | 0,01                | 0,01      | 0,32 – 0,62     | 84,5 – 108,9    | 2,34 – 4,66     | 91,6 – 100,3    |

Águas: Adição 1 - 2,5 µg L<sup>-1</sup>; Adição 2 - 20 µg L<sup>-1</sup>; Arroz: Adição 1 – 0,31 µg g<sup>-1</sup>; Adição 2 – 2,33 µg g<sup>-1</sup>; a = concentração em µg L<sup>-1</sup>; b = concentração em µg g<sup>-1</sup>. LOD – 0,12 µg L<sup>-1</sup>.

Com os resultados apresentados na Tabela 17, observou-se uma boa repetibilidade, de acordo com os baixos desvios obtidos. Esses resultados, corroborados com as figuras de mérito, sugerem que o método proposto apresentou características notáveis para quantificação e especiação de arsênio e antimônio, simultaneamente. Comparando o método proposto com outros apresentados na literatura (MORITA *et al.*, 2007; MATUSIEWICZ E KRAWCZYK, 2008; MACEDO *et al.*, 2010; LEHMANN, FOSTIER E ARRUDA, 2013) e os resultados anteriores apresentados (Tabelas 7 e 12), os limites obtidos nesta etapa do estudo foram melhores ou semelhantes, tendo ainda como vantagem a análise de especiação simultânea de As e Sb.

#### **5.4. Análise de Especiação de Mercúrio**

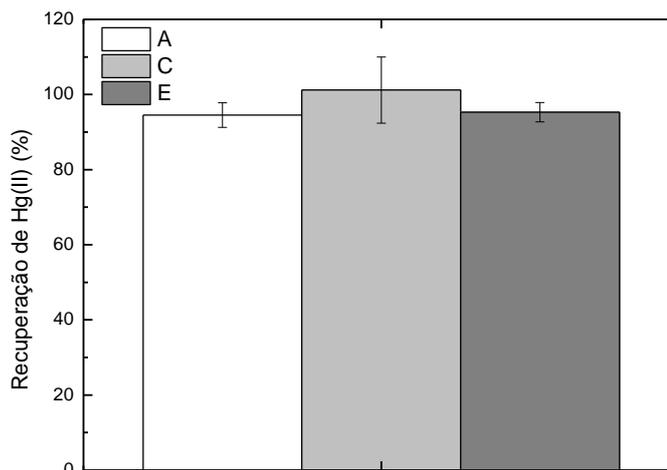
Foi proposto um método para especiação de mercúrio, baseado na geração de vapor químico de  $\text{Hg}^0$ . A geração de vapor é decorrente das formas inorgânicas presentes na amostra, já as formas orgânicas não apresentam sinal analítico.

De acordo com essa proposta, o Hg orgânico- cujo composto mais relevante na maior parte das amostras é o metil- $\text{Hg}^+$ - é obtido a partir da diferença entre a concentração total das formas presentes e a fração inorgânica,  $\text{Hg(II)}$ . Uma sonda ultrassônica foi utilizada com o intuito de promover a liberação do Hg a partir do metil- $\text{Hg}$  em um tempo de 5 minutos.

Esta etapa do experimento foi baseada no trabalho desenvolvido por RIO-SEGAGE e BENDICHO (1999), os quais utilizaram ultrassom para extração de Hg inorgânico e metil- $\text{Hg}^+$  de diversas amostras biológicas e ambientais. As determinações foram realizadas de acordo com um método previamente estabelecido (DOS SANTOS *et al.*, 2012).

##### **5.4.1. Avaliação do efeito de ultrassom sobre as espécies Hg e Metil- $\text{Hg}^+$**

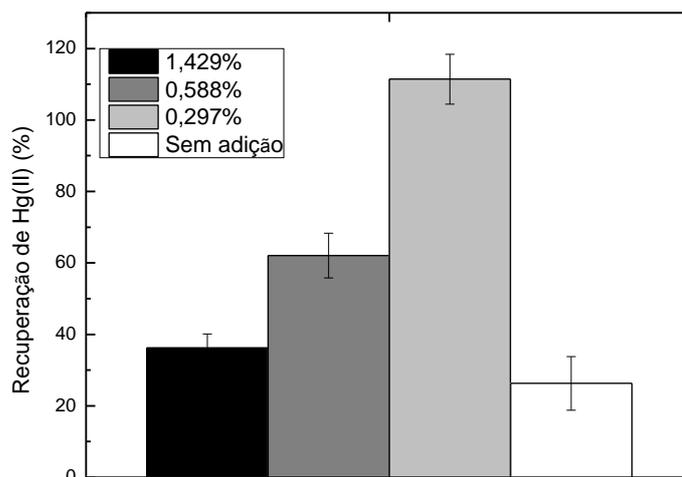
Inicialmente, foram realizados alguns experimentos para avaliar a recuperação de  $\text{Hg(II)}$  em uma mistura contendo  $\text{Hg(II)}$  em concentração de  $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$  e metil- $\text{Hg}^+$  na mesma concentração, sem que as soluções fossem submetidas ao sistema ultrassônico, sendo todas as amostras preparadas em triplicata. Os resultados são mostrados na Figura 30.



**Figura 30.** Recuperação de Hg(II) a partir da mistura contendo Hg(II) e metil-Hg<sup>+</sup>. Os estudos A, B e C foram conduzidos em diferentes dias ( $C_{\text{Hg(II)}}$  20,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ,  $C_{\text{Metil-Hg}^+}$  20,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{\text{HCl}}$  0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ , NaBH<sub>4</sub> 0,05 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH, volume de amostra 500  $\mu\text{L}$ , RF 1350 W, vazão de HCl, NaBH<sub>4</sub> e Ar 16 mL  $\text{min}^{-1}$ , 1,0 mL  $\text{min}^{-1}$  e 120 mL  $\text{min}^{-1}$ , respectivamente;  $n=3$ ).

De acordo com a Figura 30, foram obtidos resultados satisfatórios na recuperação de Hg(II) - superiores a 90 % - sem que houvesse interferência do metil-Hg<sup>+</sup>. Desse modo, é indicativo que o mercúrio orgânico não sofre decomposição no sistema de geração de vapor frio. Esse fato é considerado extremamente relevante na separação das espécies de acordo com o método proposto. Cabe salientar que as determinações foram efetuadas com as mesmas condições e em dias diferentes, apresentando valores de RSD inferiores a 9%.

Em seguida foi investigada a capacidade do ultrassom em liberar o Hg(II) presente em soluções de metil-Hg<sup>+</sup>. Foram preparadas diversas soluções com volume de 10,0 mL de metil-Hg<sup>+</sup> com concentração de Hg de 20,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Essas soluções foram submetidas ao sistema de ultrassom, sendo a concentração de Hg(II) determinada em seguida. Foram realizados experimentos com diferentes adições de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30,0 %, com a finalidade de investigar a ação do radical hidroxila (OH•) perante a extração do Hg. Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 31.

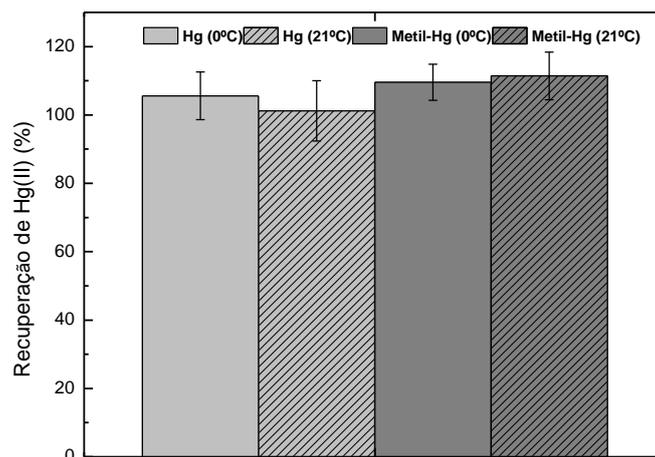


**Figura 31.** Resultados dos experimentos realizados com diferentes adições de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30,0 % v/v) na solução de metil-Hg<sup>+</sup>. Concentrações finais de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na amostra 0,297, 0,588 e 1,429% (v/v) ( $C_{\text{Hg(II)}}$  20,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ,  $C_{\text{Metil-Hg}^+}$  20,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{\text{HCl}}$  0,10 mol L<sup>-1</sup>, NaBH<sub>4</sub> 0,05 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH, volume de amostra 500  $\mu\text{L}$ , RF 1350 W, vazão de HCl, NaBH<sub>4</sub> e Ar 16 mL min<sup>-1</sup>, 1,0 mL min<sup>-1</sup> e 120 mL min<sup>-1</sup>, respectivamente).

O gráfico apresentado na Figura 31 sugere que o sistema utilizado é viável para a liberação do Hg presente no metil-Hg<sup>+</sup>. Analisando os dados obtidos, pode-se inferir que a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi fundamental nos resultados de recuperação. No entanto, concentrações muito altas apresentaram um efeito inverso na liberação do mercúrio; esse efeito pode estar associado ao fato de que uma parcela da energia passa a ser utilizada na decomposição do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e o radical hidroxila tende a sofrer recombinações. Desse modo, pode-se considerar que a adição de 0,297 % (v/v) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na amostra apresentou os melhores resultados nos experimentos realizados, com valores de recuperação da ordem de 111%.

#### 5.4.2. Avaliação da temperatura

Um aspecto importante a ser considerado em estudos envolvendo compostos com pressão de vapor relativamente alta como o Hg é a perda do analito devido à volatilização. Desse modo, foram realizados experimentos envolvendo as soluções de Hg(II) e metil-Hg<sup>+</sup> submetidas ao sistema de ultrassom nas temperaturas ambiente (aproximadamente 21 °C) e em banho de gelo (aproximadamente 0 °C). Os resultados podem ser observados na Figura 32.

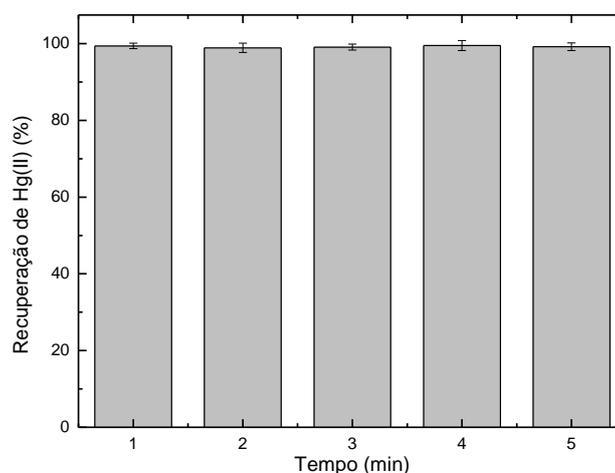


**Figura 32.** Resultados obtidos nos experimentos realizados com soluções de Hg(II) e metil-Hg<sup>+</sup> em 21 °C e 0 °C (0,297 % (v/v) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, C<sub>Hg(II)</sub> 20,0 µg L<sup>-1</sup>, C<sub>Metil-Hg+</sub> 20,0 µg L<sup>-1</sup>; C<sub>HCl</sub> 0,10 mol L<sup>-1</sup>, NaBH<sub>4</sub> 0,05 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH, volume de amostra 500 µL, RF 1350 W, vazão de HCl, NaBH<sub>4</sub> e Ar 16 mL min<sup>-1</sup>, 1,0 mL min<sup>-1</sup> e 120 mL min<sup>-1</sup>, respectivamente).

Comparando os valores obtidos para as recuperações em banho de gelo e temperatura ambiente para Hg(II) e metil-Hg<sup>+</sup>, foi possível observar que aparentemente não houve perdas do analito devido à temperatura. Desse modo, a temperatura ambiente foi adotada para continuidade dos experimentos, principalmente em virtude da maior simplicidade.

#### 5.4.3. Otimização da potência e tempo de ultrassom

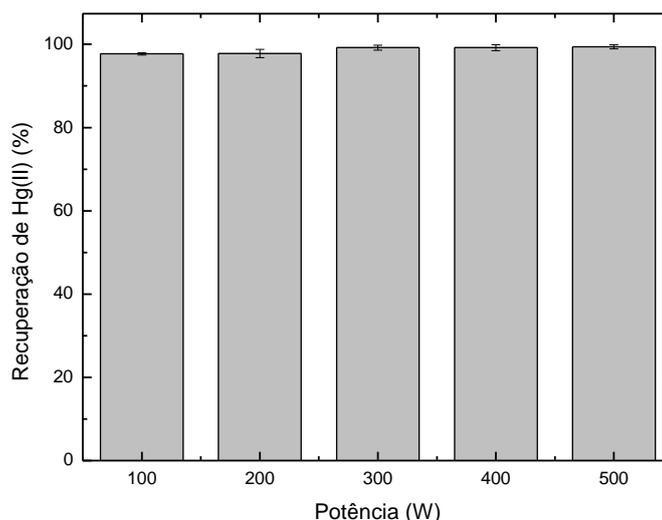
Para a finalização dessa etapa foi avaliado o tempo de ultrassom (Figura 33) e, posteriormente, a potência a ser utilizada (Figura 34).



**Figura 33.** Avaliação do tempo de ultrassom para a etapa de conversão de metil-Hg<sup>+</sup> a Hg(II) (0,297 % (v/v) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, C<sub>Hg(II)</sub> 20,0 µg L<sup>-1</sup>, C<sub>Metil-Hg+</sub> 20,0 µg L<sup>-1</sup>; C<sub>HCl</sub> 0,10 mol L<sup>-1</sup>, NaBH<sub>4</sub> 0,05 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH, volume de amostra 500 µL, RF 1350 W, vazão de HCl, NaBH<sub>4</sub> e Ar 16 mL min<sup>-1</sup>, 1,0 mL min<sup>-1</sup> e 120 mL min<sup>-1</sup>, respectivamente).

Conforme Figura 33, não foram observadas diferenças significativas entre os experimentos; dessa forma foi escolhido o menor tempo - 1 minuto - visando ao aumento da frequência analítica.

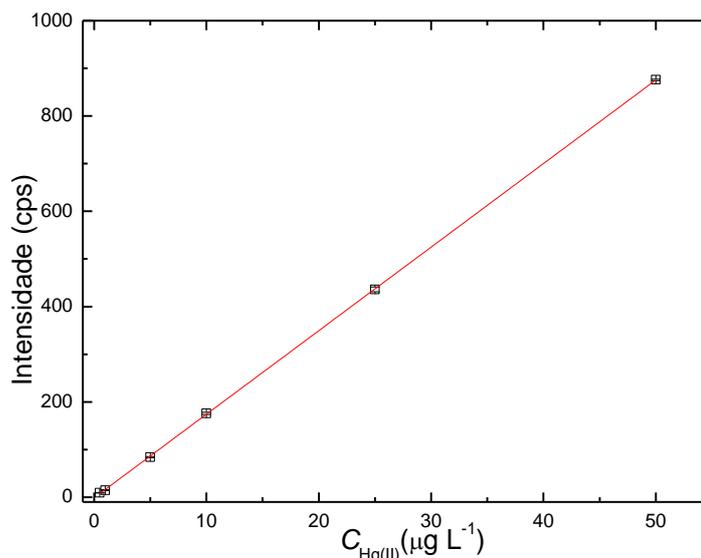
Assim como foi observado para a etapa de otimização do tempo de ultrassom, foi verificado para o estudo de potência (Figura 34) que os valores obtidos para as diferentes potências apresentaram pouca diferença. Dessa forma, optou-se em trabalhar com a potência intermediária, 300 W, pois a partir de 200 W ocorreu um pequeno decréscimo na recuperação.



**Figura 34.** Avaliação da potência de ultrassom para a etapa de conversão de metil-Hg<sup>+</sup> a Hg (II) (0,297 % (v/v) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tempo de ultrassom 1,0 min, C<sub>Hg(II)</sub> 20,0 µg L<sup>-1</sup>, C<sub>Metil-Hg<sup>+</sup></sub> 20,0 µg L<sup>-1</sup>; C<sub>HCl</sub> 0,10 mol L<sup>-1</sup>, NaBH<sub>4</sub> 0,05 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH, volume de amostra 500 µL, RF 1350 W, vazão de HCl, NaBH<sub>4</sub> e Ar 16 mL min<sup>-1</sup>, 1,0 mL min<sup>-1</sup> e 120 mL min<sup>-1</sup>, respectivamente).

#### 5.4.4. Figuras de mérito

Para avaliar a eficiência do método de especificação de Hg(II) e de metil-Hg<sup>+</sup>, foram realizados estudos de adição e recuperação empregando amostras reais: água estuarina proveniente da Baía da Babitonga de Joinville-SC e água doce proveniente de rios de Joinville-SC. Primeiramente, foi elaborada uma curva analítica utilizada neste estudo, a qual foi obtida com base nos valores médios da triplicata (Figura 35) e seus respectivos parâmetros na Tabela 18.



**Figura 35.** Curva analítica para a determinação de Hg(II) (0,297 % (v/v) de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , tempo de ultrassom 1,0 min, potência do ultrassom 300 W,  $C_{\text{Hg(II)}}$  20,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ,  $C_{\text{Metil-Hg}^+}$  20,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ;  $C_{\text{HCl}}$  0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NaBH}_4$  0,05 % (m/v) em 0,10 % (m/v) de NaOH, volume de amostra 500  $\mu\text{L}$ , RF 1350 W, vazão de HCl,  $\text{NaBH}_4$  e Ar 16 mL  $\text{min}^{-1}$ , 1,0 mL  $\text{min}^{-1}$  e 120 mL  $\text{min}^{-1}$ , respectivamente).

**Tabela 18.** Parâmetros analíticos para a determinação de Hg(II).

| Equação da reta                    | $r^2$  | s    | LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|------------------------------------|--------|------|------------------------------|------------------------------|
| $I = -1,328 + 17,542C_{\text{Hg}}$ | 0,9999 | 0,79 | 0,14                         | 0,45                         |

Com os parâmetros da curva analítica obtida para esta etapa do estudo, foi possível observar a adequação do método, para o qual foi constatada uma adequada detectabilidade para Hg(II), permitindo dar sequência à validação com base nos estudos de adição e recuperação; os resultados estão apresentados na Tabela 19 e é importante salientar que o RSD máximo obtido para o estudo foi de 6,5 %.

**Tabela 19.** Estudo de adição e recuperação de Hg(II) e metil- $\text{Hg}^+$ .

| Amostras       | Concentração obtida ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |       | Adição 1 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Recuperação (%) | Adição 2 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Recuperação (%) |
|----------------|--|-------|-----------------------------------|-----------------|-----------------------------------|-----------------|
|                | Hg(II)                                       | Hg(T) | Hg(II) – Hg(T)                    | Hg(II) - Hg(T)  | Hg(II) – Hg(T)                    | Hg(II) – Hg(T)  |
| Água Estuarina | <LOQ   | <LOQ  | 2,0 – 4,0                         | 101,0 – 98,0    | 15,0 – 30,0                       | 100,5 – 99,0    |
| Água doce      | <LOQ   | <LOQ  | 2,0 – 4,0                         | 97,8 – 100,0    | 15,0 – 30,0                       | 102,1 – 97,0    |

Com os resultados apresentados na Tabela 18, foi possível verificar que o método foi satisfatório para a análise de especiação de Hg(II) e metil- $\text{Hg}^+$ , com precisão e exatidão adequadas, de acordo com os valores de RSD e de recuperação, respectivamente.

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos após a otimização do sistema de geração de hidretos voláteis para a análise de especiação de antimônio foram satisfatórios devido ao fato de eles permitirem o uso desse sistema para o estudo de especiação e quantificação das espécies inorgânicas em diferentes estados de oxidação (III e V) para este elemento, com bons valores de LOD e LOQ tanto para o Sb(III) como para o Sb total, sendo que a quantificação do Sb(V) pode ser obtida por diferença. Adicionalmente, atrativos valores de recuperação foram observados para amostras de água mineral fortificadas com Sb(III) e Sb(V), sendo que o método estudado apresentou valor de LOQ cerca de dez vezes inferior ao valor máximo permitido de Sb total preconizado pela legislação vigente com relação a amostras de água.

Os resultados obtidos após otimização para a determinação e especiação de arsênio foram satisfatórios: obtiveram-se valores de LOD e LOQ apropriados para a aplicação do método com amostras reais tanto para o As(III) como para o As total, sendo que a quantificação do As(V) pode ser obtida por diferença. Adicionalmente, atrativos valores de recuperação foram observados para amostras, sendo que o método estudado apresentou valor de LOQ inferior ao valor máximo permitido de As total preconizado pela legislação vigente.

Na etapa do estudo referente à especiação simultânea de arsênio e antimônio, foram obtidos resultados satisfatórios indicando que o método pode ser indicado para a determinação total, bem como para a especiação dos dois analitos, sugerindo que ele poderia ser aplicado para atender às legislações vigentes, com apropriados valores de exatidão e precisão. Além disso, os níveis de detectabilidade para as diferentes espécies foram similares àqueles obtidos para as determinações de Sb e As separadamente. Com base nessas características, é possível inferir que o método pode ser aplicado na quantificação e especiação de As e Sb em análises rotineiras.

O metil-Hg<sup>+</sup> mostrou-se tanto passível de quantificação como de especiação em meios contendo Hg(II), utilizando-se o sistema de geração de vapor frio de Hg. Com a etapa de validação através do estudo de adição e recuperação, constatou-se a adequação do método proposto, o qual apresentou exatidão e precisão satisfatórias.

## 7. REFERÊNCIAS

- AGGETT, J.; ASPELL, A. C.; The determination of arsenic(III) and total arsenic by atomic-absorption spectroscopy. **Analyst**, 101, 341-347, 1976.
- AGUIAR, M.R.P.; NOVAES, A.C.; GUARINO, A.W.S.; Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos, **Quim. Nova**, 25, 1145-1154, 2002.
- ALBERTINI, S.; CARMO, L.F.; PRADO-FILHO, L.G.; Utilização de serragem e bagaço de cana-de-açúcar para a adsorção de cádmio, **Cienc. Tecnol. Alimentos**, 27, 113-118, 2007.
- ALMEIDA, V.G.K.; LIMA, M. F.; CASSELLA, R.J.; Development of a reversed FIA system for the spectrophotometric determination of Sb(III) and total Sb in antileishmanial drugs. **Talanta**, 71, 1047–1053, 2007.
- ALONSO, E. V.; CORDERO M.T.S.; TORRES, A.G.; , RUDNER, P.C.; , PAVÓN J.M.C.; Mercury speciation in sea food by flow injection cold vapor atomic absorption spectrometry using selective solid phase extraction. **Talanta**, 53-59, 2008.
- ANDREAE, M.; ASMODE, J.; FOSTER, P.; VAN'T DACK, L.; Determination of antimony (III), antimony (V), and methylantimony species in natural waters by atomic absorption spectrometry with hydride generation, **Anal. Chem.**, 53, 1766–1771, 1981.
- ANVISA, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Resolução RDC n ° 42, de 29 de agosto de 2013. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0042\\_29\\_08\\_2013.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0042_29_08_2013.html). Acessada em: 02 de Março de 2015.
- BASTOS, W.R.; LACERDA, L.F.; Contaminação por mercúrio na bacia do rio madeira: Uma breve revisão, **Geochim. Brasiliensis**, 18, 99-114, 2004.
- BENZO, Z.; MATOS-REYES, M. N.; CERVERA, M. L.; DE LA GUARDIA, M.; Simultaneous Determination of Hydride and Non-Hydride Forming Elements by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, **J. Brazil. Chem. Soc.**, 22, 1782-1787, 2011.
- BISINOTI, M.C.; JARDIM, W.F.; O comportamento do metilmercúrio (MetilHg) no Ambiente, **Quim. Nova**, 27, 593-600, 2004.
- BISSEN, M.; FRIMMEL, F. H.; Speciation of As(III), As(V), MMA and DMA in contaminated soil extracts by HPLC-ICP/MS, **Fresen. J. Anal.Chem.**, 367, 51–55, 2000.
- BOBBINS, W.B; CARUSO, J.A.; Development of Hydride Generation Methods for Atomic Spectroscopic Analysis. **Anal. Chem.**, 51, 889–899, 1979.

- BOSS, C.B.; FREDEEN, K.J. **Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry**, 2<sup>a</sup> Ed. Perkin-Elmer Corporation, 1997.
- BRIGATTI, M.F.; COLONNA, S.; Malferrari, D.; Medici, L.; Poppi, L.; Mercury adsorption by montmorillonite and vermiculite: a combined XRD, TG-MS, and EXAFS study, **Appl. Clay Sci.**, 28, 1-8, 2005.
- BRISBIN, J.A.; CARUSO, J.A.; Comparison of extraction procedures for the determination of arsenic and other elements in lobster tissue by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analyst**, 127, 921-929, 2002.
- CAMPBELL, A.D.; A critical survey of hydride generation techniques in atomic spectroscopy(IUPAC Technical Report)\*, **Pure Appl. Chem.**, 64, 227–244, 1992.
- CAVA-MONTESINOS, P.; De La GUARDIA, A.; TEUTSCH, C.; CERVERA, M.L.; De La GUARDIA, M.; Non-chromatographic speciation analysis of arsenic and antimony in milk hydride generation atomic fluorescence spectrometry, **Anal. Chim. Acta**, 493, 195–203, 2003.
- CETESB – **Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**; ANA – **Agência Nacional das Águas**; Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. São Paulo, 2011.
- CHANDRASEKARAN, K.; KRISHNA, M.V.B.; , KARUNASAGAR, D.; On-line speciation of inorganic arsenic in natural waters using polyaniline (PANI) with determination by flow injection-hydride generation-inductively coupled plasma mass spectrometry at ultra-trace levels. **J. Anal. Atom. Spectrom.**, 25, 1348-1353, 2010.
- CHAPA-MARTÍNEZ, C.A.; HINOJOSA-REYES, L.; HERNÁNDEZ-RAMÍREZ, A.; RUIZ-RUIZ, E.; MAYA-TREVIÑO, L.; GUZMÁN-MAR, J.L.; An evaluation of the migration of antimony from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water. **Sci. Total Environ.**, 565, 511-518, 2016.
- CHAUSSEAU, M; POUSSEL, E; MERMET JM. Signal and signal-to-background ratio response surface using axially viewed inductively coupled plasma multichannel detection based emission spectrometry. **J. Anal. Atom. Spectrom.**, 15, 1293-1301, 2000.
- CHEN, Z.; WANG, W.; MALLAVARAPU, M.; NAIDU, R.; Comparison of no gas and He/H<sub>2</sub> cell modes used for reduction of isobaric interferences in selenium speciation by ion chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry, **Spectrochim. Acta B**, 63, 69–75, 2008.

- CLARKSON, T.W.; MAGOS, L.; MYERS, G.J.; The toxicology of mercury — current exposures and clinical manifestations, **N Eng J Med**, 349, 1731-7, 2003.
- CONAMA, **Conselho Nacional do Meio Ambiente**, Resolução n° 357, de 17 de março de 2005, Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acessada em 13 de fevereiro de 2015.
- CONAMA, **Conselho Nacional do Meio Ambiente**, Resolução n° 397, de 3 de abril de 2008, Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=563>. Acessada em 13 de fevereiro de 2015.
- CONAMA, **Conselho Nacional do Meio Ambiente**, Resolução n° 430, de 13 de maio de 2011, Disponível em: [http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res11/propresol\\_lanceflue\\_30e31mar11.pdf](http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res11/propresol_lanceflue_30e31mar11.pdf). Acessada em 13 de fevereiro de 2015.
- DEAN, J.R.; **Practical Inductively Coupled Plasma Spectroscopy**, John Wiley & Sons Ltd, 2005.
- DEDINA, J.; TSALVE, D.L.; **Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry**. Ed. John Wiley & Sons, V.130, 1995.
- DE GREGORI, I.; QUIROZ, W.; PINOCHET, H.; PANNIER, F.; POTIN-GAUTIER, M. Simultaneous speciation analysis of Sb(III), Sb(V) and (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub> by high performance liquid chromatography-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry detection (HPLC-HG-AFS): Application to antimony speciation in sea water, **J. Chromatography A**, 1091, 94–101, 2005.
- DELGADO-ANDRADE, C.; NAVARRO, M.; LÓPEZ, H.; LÓPEZ, M.C.; Determination of total arsenic levels by hydride generation atomic absorption spectrometry in foods from south-east Spain: estimation of daily dietary intake, **Food Addit. Contam.**, 20, 923–932, 2003.
- DEMICHELI, C.; FRÉZARD, F.; Novas embalagens para medicamentos à base de antimônio usado no tratamento de Leishmaniose e Esquistossomose, **Quim. Nova Esc.**, 5, 24 – 30, 2005.
- DEPOI, D.S.; POZEBON, D.; The Use of Cloud Point Extraction and Hydride Generation for Improving the Sb and Se Limits of Detection in ICP OES, **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 23, 2211-2221, 2012.
- DIAZ-ALARCÓN, J.P.; NAVARRO-ALARCÓN, M.; DE LA SERRANA, H.L.; ASENSIO-DRIMA, C.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, M.C.; Determination and chemical speciation of selenium in farmlands from Southeastern Spain: relation to levels found in sugar cane, **J. Agric. Food Chem.**, 44, 2423-2427, 1996.

- DODD, M.; PERGANTIS, S.A.; CULLEN, W.R.; LIA, H.; EIGENDORFA, G.K.; REIMERBY, K.J.; Antimony Speciation in Freshwater Plant Extracts by Using Hydride Generation-Gas Chromatography-Mass Spectrometry, **Analyst**, 121, 223-228, 1996.
- DOS SANTOS, E.J.; HERMANN, A.B.; FRESCURA, V.L.A.; CURTIUS, A.J.; Evaluation of slurry preparation procedures for the simultaneous determination of Hg and Se in biological samples by axial view ICP OES using on-line chemical vapor generation, **Anal. Chim. Acta**, 548, 166–173, 2005.
- DOS SANTOS, E.J.; HERMANN, A.B.; FRESCURA, V.L.A.; WELZ, B.; CURTIUS, A.J.; Determination of lead in sediments and sewage sludge by on-line hydride-generation axial-view inductively-coupled plasma optical-emission spectrometry using slurry sampling, **Anal. Bioanal. Chem.**, 388, 863–868, 2007.
- DOS SANTOS, V.C.G., GRASSI, M.T.; CAMPOS, M.S.; PERALTA-ZAMORA, P.G.; ABATE, G.; Multivariate optimization of mercury determination by flow injection-cold vapor generation-inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Analyst**, 137, 4458-4463, 2012.
- DOS SANTOS, W.N.L.; Da SILVA, E.G.P.; FERNADES, M.S.; ARAUJO, R.G.O.; COSTA, A.C.S.; VALE, MG.R.; FERREIRA, S.L.C.; Determination of copper in powdered chocolate samples by slurry-sampling flame atomic-absorption spectrometry, **Anal. Bioanal. Chem.**, 382, 1099–1102, 2005.
- D'ULIVO, A.; Chemical vapor generation by tetrahydroborate(III) and other borane complexes in aqueous media A critical discussion of fundamental processes and mechanisms involved in reagent decomposition and hydride formation, **Spectrochim. Acta B**, 59, 793–825, 2004.
- D'ULIVO, A.; DĚDINA, J.; MESTER, Z.; STURGEON, R.E.; WANG, Q.; WELZ, B.; Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC Technical Report)\*, **Pure Appl. Chem.**, 83, 1283-1340, 2011.
- D'ULIVO, A.; MESTER, Z.; STURGEON, R.E.; The mechanism of formation of volatile hydrides by tetrahydroborate(III) derivatization: A mass spectrometric study performed with deuterium labeled reagents, **Spectrochim. Acta B**, 60, 423 – 438, 2005.
- DRESSLER, V.L.; ANTES, F.G.; MOREIRA, C.M.; POZEBON, D.; DUARTE, F.A.; As, Hg, I, Sb, Se and Sn speciation in body fluids and biological tissues using hyphenated-ICP-MS techniques: A review, **Int. J. Mass Spectrom.**, 307, 149–162, 2011.
- EPA Drinking Water Contaminants, 2009. Disponível em <<http://water.epa.gov/drink/contaminants/>>. Acessada em: 29 de março de 2015.

- EU, STATUTORY INSTRUMENTS. S.I. No. 350 de 2014. Disponível em: <<http://www.environ.ie/en/Legislation/Environment/Water/FileDownload,36872,en.pdf>>. Acessada em: 29 de março de 2015.
- FAN, Z.; Determination of antimony(III) and total antimony by single-drop microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry, **Anal. Chim. Acta**, 585, 300–304, 2007.
- FDA, **Code of Federal Regulations**, Title 21, v. 2, 2012. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?fr=165.110>>. Acessada em: 13 de fevereiro de 2015.
- FENG, X.J.; FU, B.; Determination of arsenic, antimony, selenium, tellurium and bismuth in nickel metal by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, **Anal. Chim. Acta**, 371, 109-113, 1998.
- FENG, Y.O.; NARASAKI, H.; CHEN, H.; TIAN, L.; Speciation of antimony(III) and antimony(V) using hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry combined with the rate of pre-reduction of antimony, **Anal. Chim. Acta**, 386, 297 – 304, 1999.
- FERREIRA, H.S.; FERREIRA, S.L.C.; CERVERA, M.L.; GUARDIA, M.; Development of a non-chromatographic method for the speciation analysis of inorganic antimony in mushroom samples by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, **Spectrochim. Acta Part B**, 64 597–600, 2009.
- FILELLA, M.; BELZILE, N.; CHEN, Y.; Antimony in the environment: a review focused on natural waters I. Occurrence, **Earth-Sci. Rev.**, 57, 125–176, 2002.
- FILELLA, M.; BELZILE, N.; LETT, M.; Antimony in the environment: A review focused on natural waters. III. Microbiota relevant interactions, **Earth-Sci. Rev.**, 80, 195–217, 2007.
- FLORES, E.M.M.; Dos SANTOS, E.P.; BARIN, J.S.; ZANELLA, R.; DRESSLER, V.L.; BITTENCOURT, C.F.; Determination of antimony(III) and total antimony by hydride generation atomic absorption spectrometry in samples of injectable drugs used for leishmaniasis treatment, **J. Anal. Atom. Spectrom.**, 17, 819–823, 2002.
- FLORENCE, T.M.; The speciation of trace elements in waters, **Talanta**, 29, 345-349, 1982.
- FU, Z.; WU, F.; AMARASIRIWARDENA, D.; MO, C.; LIU, B.; ZHU, J.; DENG, Q.; LIAO, H.; Antimony, arsenic and mercury in the aquatic environment and fish in a large antimony mining area in Hunan, China. **Sci. Total Environ.**, 408, 3403-3410, 2010.

- FUENTES, E.; PINOCHET, H.; GREGORI, I.; POTIN-GAUTIER, M.; Redox speciation analysis of antimony in soil extracts by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, **Spectrochim. Acta B**, 58, 1279–1289, 2003.
- GARBÓS, S.; BULSKA, E.; HULANICKI, A.; FIJAŁEK, Z.; SOŁTYK, K.; Determination of total antimony and antimony(V) by inductively coupled plasma mass spectrometry after selective separation of antimony(III) by solvent extraction with *N*-benzoyl-*N*-phenylhydroxylamine, **Spectrochim. Acta B**, 55, 795-802, 2000.
- GONZÁLEZ, J.C.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C.; Evaluation of non-chromatographic approaches for speciation of extractable As(III) and As(V) in environmental solid samples by FI-HGAAS, **Talanta**, 59, 25 – 534, 2003.
- GUINÉ, M.F.; **Espectrometria de Emissão Atômica Com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP AES)**, CENA-USP, 1998.
- GUY, A.; JONES, P.; HILL, J.S.; Identification and chromatographic separation of antimony species with  $\alpha$ -hydroxy acids, **Analyst**, 123, 1513–1518, 1998.
- GREENFIELD, S.; JONES, I. L. I.; BERRY, C. T. High-Pressure Plasmas as Spectroscopic Emission Sources. **Analyst**, v. 89, p. 713-720, 1964.
- HANSEN, C.; SCHMIDT, B.; LARSEN, E.H.; GAMMELGAARD, B.; STÜRUP, S.; HANSEN, H.R.; Quantitative HPLC-ICP-MS analysis of antimony redox speciation in complex sample matrices: new insights into the Sb-chemistry causing poor chromatographic recoveries, **Analyst**, 136, 996-1002, 2011.
- INMETRO, Coordenação Geral de Acreditação, Orientação sobre validação de métodos analíticos, **DOQ-CGC-RE-008**. Revisão 04-JUL/2011.
- JANEGITZ, B.C.; LOURENÇÃO, B.C.; LUPETTI, K.O.; FATIBELLO-FILHO, O.; Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias, **Quim. Nova**, 30, 879-884, 2007.
- JIANG, X.; WEN, S.; XIANG, G.; Cloud point extraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the speciation of antimony(III) and antimony(V) in food packaging materials, **J. Hazard. Mat.**, 175, 146–150, 2010.
- KIBRIA, G.; HOSSAIN, M.M.; MALLICK, D.; LAU, T.C.; WU, R.; Monitoring of metal pollution in waterways across Bangladesh and ecological and public health implications of pollution, **Chemosphere**, 165, 1-9, 2016.
- KOBAYASHI, K.; KATSUYA, Y.; ABDULAH, R.; KOYAMA, H.; Rapid and Direct Determination of Selenium, Copper, and Zinc in Blood Plasma by Flow Injection–

- Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry, **Biol. Trace Elem. Res.**, 115, 87-93, 2007.
- KÓNYA, J.; NAGY, N.M.; Sorption of dissolved mercury (II) species on calciummontmorillonite: an unusual pH dependence of sorption process, **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, 288, 447-454, 2011.
- LAJUNEN, L.H.J.; PERAMAKI, P.; Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission, 2<sup>a</sup> Ed., **The Royal Society of Chemistry**, 2004.
- LEHMANN, E. L.; FOSTIER, A. H.; ARRUDA, M. A. Z. Hydride generation using a metallic atomizer after microwave-assisted extraction for inorganic arsenic speciation in biological samples. **Talanta**, 104, 187-192, 2013.
- LENOBLE, V.; DELUCHAT, V.; SERPAUD, B.; BOLLINGER, J.; Arsenite oxidation and arsenate determination by the molybdene blue method, **Talanta**, 61, 267-276, 2003.
- LEUFROY, A.; NOËL, L.; DUFAILY, V.; BEAUCHEMIN, D.; GUÉRIN, T.; Determination of seven arsenic species in seafood by ion exchange chromatography coupled to coupled plasma-mass spectrometry flowing microwave assisted extraction: Method validation and concentration. **Talanta**, 83, 770-779, 2011.
- LI, N.; FANG, G.; ZHU, H.; GAO, Z.; WANG, S.; Determination of As(III) and As(V) in water samples by flow injection online sorption preconcentration coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry, **Microchim. Acta**, 165, 135–141, 2009.
- LI, P.; FENG, X.; QIU, G.; LI, Z.; FU, X.; SAKAMOTO, M.; LIU, X.; WANG, D.; Mercury exposures and symptoms in smelting workers of artisanal mercury mines in Wuchuan, Guizhou, China, **Environ. Res.**, 107, 108–114, 2008.
- LI, Z.; CHANG, X.; ZOU, X.; ZHU, X.; NIE, R.; HU, Z.; LI, R.; Chemically-modified activated carbon with ethylenediamine for selective solid-phase extraction and preconcentration of metal ions, **Anal. Chim. Acta**, 632, 272–277, 2009.
- LI, Y.; HU, B.; JIANG, Z.; On-line cloud point extraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for the speciation of inorganic antimony in environmental and biological samples, **Anal. Chim. Acta**, 576, 207–214, 2006.
- LOON, J.C.V.; BAREFOOT, R.R.; Overview of Analytical Methods for Elemental Speciation, **Analyst**, 117, 563 – 570, 1992.
- LOPES-GARCIA, I.; MUÑOZ-SANDOVAL, M.J.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; Speciation of very low amounts of antimony in waters using magnetic core modified silver

- nanoparticles and electrothermal atomic absorption spectrometry, **Talanta**, 162, 309–315, 2017.
- LUND, W.; Speciation analysis - why and how? **Fresenius J. Anal. Chem.**; 337, 557- 564, 1990.
- MACEDO, S.M.; Dos SANTOS, D.C.; De JESUS, R.M.; Da ROCAHA, G.O.; FERREIRA, S.L.C.; De ANDRADE, J.B.; Development of an analytical approach for determination of total arsenic and arsenic (III) in airborne particulate matter by slurry sampling and HG-FAAS, **Microchem. J.**, 96, 46–49, 2010.
- MAITY, S.; CHAKRAVARTY, S.; THAKUR, P.; GUPTA, K.K.; BHATTACHARJEE, S.; ROY, B.C.; Evaluation and standardisation of a simple HG-AAS method for rapid speciation of As(III) and As(V) in some contaminated groundwater samples of West Bengal, India, **Chemosphere**, 54, 1199–1206, 2004.
- MALFERRARI, D.; BRIGATTI, M.F.; LAURORA, A.; PINI, S.; MEDICI, L.; Sorption kinetics and chemical forms of Cd(II) sorbed by thiol-functionalized 2:1 clay minerals, **J. Hazard. Mater.**, 143,73–81, 2007.
- MARINS, R.V.; PARAQUETTI, H.H.M.; AYRES, G.A.; Alternativa analítica para especiação físico-química de mercúrio em águas costeiras tropicais, **Quim. Nova**, 25, 372-378, 2002.
- MATUSIEWICZ, H.; KOPRAS, M.;STURGEON, R.E.; Determination of Cadmium in Environmental Samples by Hydride Generation with In Situ Concentration and Atomic Absorption Detection, **Analyst**, 122, 331–336, 1997.
- MATUSIEWICZ, H.; KRAWCZYK, M.; Determination of total antimony and inorganic antimony species by hydride generation in situ trapping flame atomic absorption spectrometry: a new way to (ultra)trace speciation analysis. **J. Anal. At. Spect.**, 23, 43-53, 2008
- MATUSIEWICZ, H.; ŚLACHCIŃSKI, M.; Method development for simultaneous multi-element determination of hydride forming elements (As, Bi, Ge, Sb, Se, Sn) and Hg by microwave induced plasma optical emission spectrometry using integrated continuous-micro flow ultrasonic nebulizer-hydride generator sample introduction system, **Microchem. J.**, 95, 213–221, 2010.
- MELAMED, R.; LUZ, A.B.; Efficiency of industrial minerals on the removal of mercury species from liquid effluents, **Sci. Total Environ.**, 368, 403-406, 2006.
- MELAMED, R.; LUZ, A.B.; Utilização de minerais industriais na retenção de espécies de mercúrio, **XXI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa – Natal – RN**, 01, 504-508, 2005.

- MENEGÁRIO, A.A.; SILVA, A.J.; POZZI, E.; DURRANT, S.F.; ABREU JR., C.H.; On-line determination of Sb(III) and total Sb using baker's yeast immobilized on polyurethane foam and hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry **Spectrochim. Acta B**, 61,1074–1079, 2006.
- MENEGÁRIO, A.A.; SMICHOWSKI, P.; TONELLO, P.S.; POLLA, G.; OLIVEIRA, E.P.; SANTELLI, R.E.; On-line redox speciation analysis of antimony using l-proline immobilized on controlled pore glass and hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry for detection, **Anal. Chim. Acta**, 625, 131–136, 2008.
- MICARONI, R.C.C.M.; BUENO, M.I.M.S.; JARDIM, W.F.; Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte, **Quim. Nova**, 23, 487-495, 2000.
- MIEKELEY, N.; PEREIRA, R.C.; CASARTELLI, E.A.; ALMEIDA, A.C.; CARVALHO, M.F.B.; Inorganic speciation analysis of selenium by ion chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry and its application to effluents from a petroleum refinery, **Spectrochim. Acta B**, 60, 633–641, 2005.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914\\_12\\_12\\_2011.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html). Acessada em 02 de março de 2015.
- MOREDA-PIÑEIRO, J.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.; Direct mercury determination in aqueous slurries of environmental and biological samples by cold vapour generation–electrothermal atomic absorption spectrometry, **Anal. Chim. Acta**, 460, 111–122, 2002a.
- MOREDA-PIÑEIRO, J.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.; Direct As, Bi, Ge, Hg and Se(IV) cold vaporyhydride generation from coal fly ash slurry samples and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry, **Spectrochim. Acta B**, 57, 883–895, 2002b.
- MORITA, Y. KOBAYASHI, T.; KUROIWA, T.; NARUKAWA, T.; Study on simultaneous speciation of arsenic and antimony by HPLC-ICP-MS. **Talanta**, 73, 81-86, 2007.
- MOSCOSO-PÉREZ, C.; MOREDA-PIÑEIRO, J.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.; Hydride generation atomic fluorescence spectrometric determination of As, Bi, Sb, Se(IV) and Te(IV) in aqua regia extracts from atmospheric particulate matter using multivariate optimization, **Anal. Chim. Acta**, 526, 185–192, 2004.
- MOZETO, A.A.; JARDIM, W.F.; A química ambiental no Brasil, **Quim. Nova**, 25, 7-11, 2002.

- NHAM, T. N. Fast Analysis of Water Samples Comparing Axially and Radially – Viewed CCD Simultaneous ICP-AES. **Varian ICP-AES at work**, Austrália, ICP-28, p. 1-6, 1999.
- NAJAFI, N.M.; SEIDI, S.; ALIZADEH, R.; TAVAKOLI, H.; Inorganic selenium speciation in environmental samples using selective electrodeposition coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry, **Spectrochim. Acta B**, 65, 334–339, 2010.
- NARUKAWA, T.; INAGAKI, K.; KUROIWA, T.; CHIBA, K.; The extraction and speciation of arsenic in rice flour by HPLC-ICP-MS. **Talanta**, 77, 427-432, 2008.
- NÄYKKI, T.; PERÄMÄKI, P.; KUJALA, J.; MIKKONEN, A.; Optimization of a flow injection hydride generation atomic absorption spectrometric method for the determination of arsenic, antimony and selenium in iron chloride/sulfate-based water treatment chemical, **Anal. Chim. Acta**, 439, 229–238, 2001.
- OEHME, I. WOLFBEIS, O.S.; Optical Sensors for Determination of Heavy Metal Ions, **Mikrochim. Acta**, 126, 177-192, 1997.
- ÖZCAN, A.; ÖZCAN, A.S.; TUNALI, S.; AKAR, T.; KIRAN, I.; Determination of the equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters of adsorption of copper(II) ions onto seeds of *Capsicum annum*, **J. Hazard. Mater.**, B124, 200-208, 2005.
- PALANQUES, A.; LOPEZ, L.; GUILLÉN, J.; PUIG, P.; MASQUÉ, P.; Decline of trace metal pollution in the bottom sediments of the Barcelona City continental shelf (NW Mediterranean), **Sci. Total Environ.** 579, 755-767, 2016.
- PALDYNA, J.; KRASNOŁĘBSKA-OSTRĘGA, B.; SADOWSKA, M.; GOŁĘBIEWSKA J.; Indirect Speciation Analysis of Thallium in Plant Extracts by Anodic Stripping Voltammetry, **Eletroanal.**, 25, 1926-1932, 2013.
- PEREIRA, S.F.P.; FERREIRA, S.L.C.; COSTA, A.C.S.; SARAIVA, A.C.F.; SILVA, A.K.F.; Método do dietilditiocarbamato de prata (sddc) e trietanolamina/chcl<sub>3</sub> como solvente, **Eclet. Quím.**, 27, 2002.
- PETRY, C. F.; **Determinação de elementos traços em amostras ambientais por ICP OES**, dissertação, UFRS, 2005.
- PIZARRO, I.; GÓMEZ, M.; CÁMARA, C.; PALACIOS, M.A.; Arsenic speciation in environmental and biological samples Extraction and stability studies, **Anal. Chim. Acta**, 495, 85–98, 2003.
- POHL, P.; Hydride generation – recent advances in atomic emission spectrometry. **Trends Anal. Chem.**, v. 23, n. 2, p. 87-101, 2004.

- POHL, P.; ZYRNICKI, W.; Study of chemical and spectral interferences in the simultaneous determination of As, Bi, Sb, Se and Sn by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, **Anal. Chim. Acta**, 468, 71–79, 2002.
- PUNRAT, E.; CHUANUWATANAKUL, S.; KANETA, T.; MOTOMIZU, S.; CHAILAPAKUL, O.; Method Development for the Determination of Arsenic by Sequential Injection/Anodic Stripping Voltammetry Using Long-Lasting Gold-Modified Screen-Printed Carbon Electrode. **Talanta**, 116, 1018-1025, 2013.
- QUEIROZ, H.J.C.; **Injeções intra-musculares no tratamento da syphilis**, tese apresentada a Escola Médico-Cirúrgica do Porto, 1903.
- QIU, J.; WANG, Q.; MA, Y.; YANG, M.; HUANG, B.; On-line pre-reduction of Se(VI) by thiourea for selenium speciation by hydride generation, **Spectrochim. Acta B**, 61, 803–809, 2006.
- RATH, S.; JARDIM, W. F.; DÓREA, J. G.; A simple spectrophotometric procedure for the determination of antimony (III) and (V) in antileishmanial drugs. **Fresenius J. Anal. Chem.**, 358, 1997, 548–550.
- RATH, S.; TRIVELIN, L.A.; IMBRUNITO, T.R.; TOMAZELA, D.M.; JESÚS, M.N.; MARZAL, P.C.; ANDRADE JUNIOR, H.F.; TEMPONE, A.G.; Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte, **Quim. Nova**, 26, 2003, 550-555.
- REYES, M.N.M.; CERVERA, M.L.; CAMPOS, R.C.; de la GUARDIA, M.; Determination of arsenic, arsenate, monomethylarsonic acid and dimethylarsinic acid in cereals y hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Spectrochim. Acta**, 62, 1078-1082, 2007.
- RIO-SEGADE, S; BENDICHO, C. Slurry sampling combined with ultrasonic pretreatment for total mercury determination in samples containing inorganic and methylmercury by flow injection-cold vapor-atomic absorption spectrometry. **J. Anal. Atom. Spectrom.**, 14, 1907-1912, 1999.
- ROSA, A.H.; FRACETO, L.F.; MOSCHINI-CARLOS, V.; **Meio Ambiente e Sustentabilidade**, 1ª ed., Bookmann, Porto Alegre, 2012.
- SAMANTA, G.; CHOWDHURY, T.R.; MANDAL, B.K.; BISWAS, B.K.; CHOWDHURY, U.K.; BASU, G.K.; CHANDA, C.R.; LODH, D.; CHAKRABORTI, D.; Flow Injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry for Determination of Arsenic in Water and Biological Samples from Arsenic-Affected Districts of West Bengal, India, and Bangladesh, **Microchem.J.**, 62, 174–191, 1999.
- SANTOS, C.M.M.; NUNES, M. A.G.; BARBOSA, I.S.; SANTOS, G.L.; PESO-AGUIAR, M.C.; KORN, M.G.A.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L.; Evaluation of microwave and

- ultrasound extraction procedures for arsenic speciation in bivalve mollusks by liquid chromatography- inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Spectrochim, Acta B**, 86, 108-114, 2013.
- SANTOS J.R., A.F.; KORN, M.G.A.; JAEGER, H.V.; SILVA, N.M.S.; COSTA, A.C.S.; Determinação de Mn, Cu e Zn em matrizes salinas após separação e pré-concentração usando amberlite XDA-7 impregnada com vermelho de alizarina S., **Quim. Nova**, 25, 1086-1090, 2002.
- SARTIN, J.S.; PERRY, H.O.; From mercury to malaria to penicillin: The history of the treatment of syphilis at the Mayo Clinic-1916-1955, **J. Amer. Acad. Dermatol.**, 32, 255-261, 1995.
- SAX, L. Polyethylene terephthalate may yield endocrine disruptors, **Environ. Health Perspect.**, 118, 445–448, 2010.
- SCOTT, R.H.; FASSEL, V.A.; KNISELEY, R.N.; NIXON, D.E.; Inductively Coupled Plasma optical emission analytical spectrometry. A compact facility for trace analysis of solutions. **Anal. Chem.**, v. 46, p. 75-80, 1974.
- SÉBY, F.; GLEYZES, C.; GROSSO, O.; PLAU, B.; DONARD, O. F. X.; Speciation of antimony in injectable drugs used for leishmaniasis treatment (Glucantime®) by HPLC-ICP-MS and DPP, **Anal. Bioanal. Chem.**, 404, 2012, 2939–2948.
- SERAFIMOVSKI I., KARADJOVA I.B., STAFILOV T., TSALEV D.L., Determination of total arsenic and toxicologically relevant arsenic species in fish by using electrothermal and hydride generation atomic absorption spectrometry, **Microchem. J.**, 83, 55-60, 2006.
- SHARP, B.L.; Pneumatic nebulizers and spray chambers for inductively coupled plasma spectrometry. A review. 1. Nebulizers. **J. Anal. Atom. Spectrom.**, 3, 613-652, 1988.
- SHI, J.; TANG, Z.; JIN, Z.; CHI, Q.; HE, B.; JIANG, G.; Determination of As(III) and As(V) in soils using sequential extraction combined with flow injection hydride generation atomic fluorescence detection, **Anal. Chim. Acta**, 477, 139–147, 2003.
- SILVA, F. V.; TREVIZAN, L. C.; SILVA, C. S.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A.; Evaluation of inductively coupled plasma optical emission spectrometers with axially and radially viewed configurations. **Spectrochim. Acta. Part B.**, v. 57, n. 12, p. 1905-1913, 2002.
- SMICHOWSKI, P.; LONDONIO, A.; The role of analytical techniques in the determination of metals and metalloids in dietary supplements: A review, **Microchem. J.**, 2016. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2016.11.007>.

- SONG, Y.; SWAIN, G.M.; Total inorganic arsenic detection in real water samples using anodic stripping voltammetry and a gold-coated diamond thin-film electrode. **Anal. Chim. Acta**, 593, 7–12, 2007.
- SUN, Y.C.; CHEN, Y.J.; TSAI, Y.N.; Determination of urinary arsenic species using an on-line nano-TiO<sub>2</sub> photooxidation device coupled with microbore LC and hydride generation-ICP-MS system, **Microchem. J.**, 86, 140–145, 2007.
- TAKASE, I.; PEREIRA, H. B.; LUNA, A. S.; GRINBERG, P.; CAMPOS, R. C.; A Geração química de vapor em espectrometria atômica. **Quim. Nova**, 25, 1132-1144, 2002.
- TARLEY, C.R.T.; ARRUDA, M.A.Z.; Adsorventes naturais: potencialidades e aplicações da esponja natural (*luffacylindrica*) na remoção de chumbo em efluentes de laboratório, **Revista Analytica**, 4, 26-31, 2003.
- TAYLOR, H.E.; **Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry - Practices and Techniques**. Academic press, 2001.
- TELFORD, K.; MAHER, W.; KRIKOWA, F.; FOSTER, S.; ELLWOOD, M.J.; ASHLEY, P.M., LOCKWOOD, P.V.; WILSON, S.C.; Bioaccumulation of antimony and arsenic in a highly contaminated stream adjacent to the Hillgrove Mine, NSW, Australia, **Environ. Chem.**, 6, 133–143, 2009.
- TEMPLETON, D. M.; ARIESE, F.; CORNELIS, R.; DANIELSSON; MUNTAU, H.; LEEUWEN, H.P.V.; ŁOBIŃSKI, R.; Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. **Pure Appl. Chem.**, 72, 1453–1470, 2000.
- THOMPSON, M.; WALSH J. N.; **Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectrometry**, 2<sup>a</sup> Ed., Chapman and Hall, 1989.
- TOLEDO, T.V.; BELLATO, C.R.; Do ROSÁRIO, R.H.; NETO, J.O.M.; Adsorção de arsênio(V) pelo compósito magnético hidrotalcita - óxido de ferro, **Quim. Nova**, 34, 561-567, 2011.
- TOLU, J.; HÉCHO, I.L.; BUENO, M.; THIRY, T.; POTIN-GAUTIER, M.; Selenium speciation analysis at trace level in soils, **Anal. Chim. Acta**, 684, 126–133, 2011.
- TOREM, M.L.; DA CUNHA, F.O.; CASQUEIRA, R.G; Eletroflotação aplicada à remoção de metais pesados contidos em efluentes líquidos, **Tecnol. Metal. Mater.**, 1, 40-46, 2005.
- TRIVELIN, A.L.; ROHWEDDER, J.J.R.; RATH, S.; Determination of pentavalent antimony in antileishmaniotic drugs using an automated system for liquid–liquid extraction with on-line detection. **Talanta**, 68, 2006, 1536–1543.
- TUZEN, M.; ÇITAK, D.; MENDIL, D.; SOYLAK, M.; Arsenic speciation in natural water samples by coprecipitation-hydride generation atomic absorption spectrometry combination, **Talanta**, 78, 52–56, 2009.

- ULUSOY, H.I.; AKÇAY, M.; GÜRKAN, R.; Development of an inexpensive and sensitive method for the determination of low quantity of arsenic species in water samples by CPE–FAAS, **Talanta**, 85, 1585–1591, 2011.
- VIEIRA, M.A.; RIBEIRO, A.S.; CURTIUS, A.J.; Slurry sampling of sediments and coals for the determination of Sn by HG-GF AAS with retention in the graphite tube treated with Th or W as permanent modifier, **Anal. Bioanal. Chem.**, 380, 570–57, 2004.
- VIEIRA, M.A.; RIBEIRO, A.S.; DIAS, L.F.; CURTIUS, A.J.; Determination of Cd, Hg, Pb and Se in sediments slurries by isotopic dilution calibration ICP-MS after chemical vapor generation using an on-line system or retention in an electrothermal vaporizer treated with iridium, **Spectrochim. Acta B**, 60, 643–652, 2005.
- VIEIRA, M.A.; RIBEIRO, A.S.; DIAS, L.F.; CURTIUS, A.J.; Determination of Hg and Se in biological materials by chemical vapor generation electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry using isotope dilution calibration after microwave-assisted digestion with *Aqua Regia*, **J. Brazil. Chem. Soc.**, 17, 923-928, 2006.
- ZHANG, Y.; FRANKENBERGER Jr. W.T.; Speciation of selenium in plant water extracts by ion exchange chromatography-hydride generation atomic absorption spectrometry, **The Sci. Total Environ.**, 269, 39–47, 2001.
- ZHENG, J.; OHATA, M.; FURUTA, N.; Studies on the speciation of inorganic and organic antimony compounds in airborne particulate matter by HPLC-ICP-MS, **Analyst**, 125, 1025–1028, 2000.
- YARON, B.; DROR, I.; BERKOWITZ, B.; **Soil-Subsurface Change**, Springer - Verlag Berlin Heidelberg, 2012.
- WASSERMAN, J.C.; HACON, S.S.; WASSERMAN, M.A.; Ciclo do mercúrio no ambiente amazônico, **Mundo & Vida**, 2, 46-53, 2001.
- WELZ, B.; SPERLING, M.; **Atomic Absorption Spectrometry**, 3<sup>a</sup> Ed. Wiley, VCH, 1999.
- WEN, G.; ZHANG, X.; LI, Y.; LUO, Y.; LIANG, A.; JIANG, Z.; Highly sensitive determination of antimony in food by resonance Rayleigh scattering-energy transfer between grapheme oxide and I<sub>3</sub><sup>-</sup> **Food Chem.**, 214, 25-31, 2017.
- WENDT, R. H.; FASSEL, V. A.; Inductively-Coupled Plasma Spectrometric Excitation Source. **Anal. Chem.**, 37, p. 920-922, 1965.