

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS COM PLASMA ACOPLADO
INDUTIVAMENTE PARA A DETERMINAÇÃO DE
CONSTITUINTES INORGÂNICOS NO CICLO
PRODUTIVO DO FRANGO DE CORTE E IODO EM SAL
DE COZINHA**

Amália Geíza Gama Dionísio*

**Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título
de DOUTOR EM CIÊNCIAS, área
de concentração: QUÍMICA
ANALÍTICA.**

Orientador: Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega

* bolsista CNPq e Capes (9271/11-2)

São Carlos - SP

2013

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

D592at

Dionísio, Amália Geíza Gama.

Avaliação de técnicas com plasma acoplado indutivamente para a determinação de constituintes inorgânicos no ciclo produtivo do frango de corte e iodo em sal de cozinha / Amália Geíza Gama Dionísio. -- São Carlos : UFSCar, 2013.

114 f.

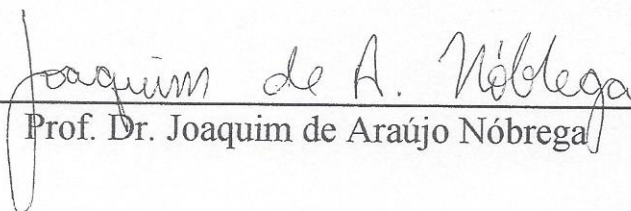
Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

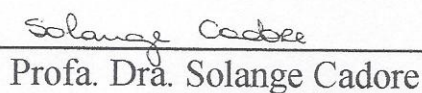
1. Química. 2. Especiação química. 3. Cloreto de sódio. I. Título.

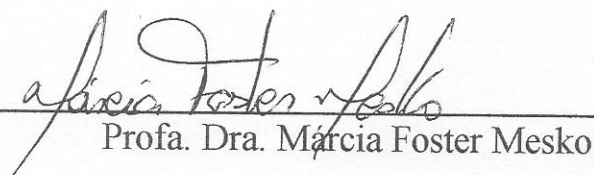
CDD: 540 (20^a)

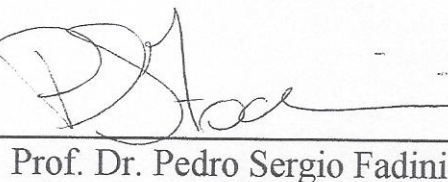
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Doutorado

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de tese de doutorado da candidata Amália Geiza Gama Dionisio, realizada em 26 de abril de 2013:


Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega


Prof. Dra. Solange Cadore


Prof. Dra. Márcia Foster Mesko


Prof. Dr. Pedro Sergio Fadini


Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira

*Dedico este trabalho a todos os
meus familiares e amigos
pelo apoio, ensinamentos, incentivos
e confiança sempre depositados.*

Eu dedico!

AGRADECIMENTOS

- ❖ Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado esta oportunidade, e por ser tudo em minha vida.
- ❖ Ao Prof. Dr^o. Joaquim de Araújo Nóbrega, pela orientação, compreensão, dedicação, amizade e pelos ensinamentos durante esses anos. Muito obrigada!
- ❖ Aos Prof. Dr^a Ana Rita de Araújo Nogueira da Embrapa Pecuária Sudeste, pela amizade, apoio e discussões durante a realização deste trabalho.
- ❖ Ao Prof^o Dr^o. Edenir Rodrigues Pereira Filho, pela amizade, apoio, generosidade e pelas valiosas discussões durante a realização deste trabalho.
- ❖ Aos Profs. Dr^{os}. Érico Marlon de Moraes Flores, Valderi Luiz Dressler e Edson Irineu Müller, Cezar A. Bizzi e Lucas Schmidt e alunos do Grupo de Pesquisa de Análises Químicas Industriais e Ambiental pela ótima recepção, colaboração durante a realização de uma etapa deste trabalho na Universidade Federal de Santa Maria.
- ❖ Ao Prof. Dr. Antonio Hernandez Canals e a Prof^a.Dr^a.Maria Montserrat Hidalgo Nuñez, Prof^a Dr^a. Lorena Vidal Martínez, Nikolay Rumyanov Kovachev e Miguel Ángel Aguirre Pastor da Universidad de Alicante (Alicante, Espanha) pela recepção, oportunidade e colaboração no trabalho realizado.
- ❖ Às Kallyni Irikura e Juliane Sempionatto por tornarem minha estada na Espanha inesquecível.
- ❖ Aos amigos do Gaia e Ex-Gaia por todas as conversas, risadas e broncas. Gostaria de escrever um pouquinho para cada um, mais como não posso....fica aqui meu muito obrigada por tudo!
- ❖ Ao Osmundo “Gzinho”, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos, pelo amor, paciência e compreensão... Te Amo!
- ❖ Aos amigos e professores de outros laboratórios: RMN, LABIE pela amizade conquistada durante estes anos em São Carlos.

- ❖ Aos meus familiares (avós, mãe, pai, tias, tios, irmãos, primos e primas) que sempre estiveram comigo me dando força, apoio e pelo convívio contínuo.
- ❖ A todos os meus amigos da ENS e da Paróquia de Sta Luzia, pelos incentivos, palavras bem colocadas e por ser parte da minha família que conquistei aqui em São Carlos. Vocês são especiais demais!
- ❖ A todos os funcionários da UFSCar por serem sempre prestativos, em especial às secretárias do Programa de Pós-Graduação: Ariane Gonzalez Leonardo, Cristina Aparecida Motta e Luciani G. Juarez Silvério.
- ❖ Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade.
- ❖ Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas concedidas.
- ❖ A todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

LISTA DE ABREVIATURAS

AFS	Espectrometria de fluorescência atômica
AsB	Arsenobetaína
CFA-C	Solução de aminas terciárias solúveis em água
CRI	Interface de reação e colisão
CV AAS	Espectrometria de absorção atômica com vapor frio
CVG-ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente com geração de vapor frio
DMA	Ácido dimetilarsínico
FBMN	Multinebulizador <i>Flow-Blurring</i> [®]
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite
HG – GFAAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite acoplado com geração de hidreto
HG AAS	Espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente
IFS	Padrão de Interferência
LC	Cromatografia líquida
MMA	Ácido monometilasômico
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de ¹ H
TMA	Tetrametilarsônio
WHO	Organização Mundial de Saúde

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Parâmetros operacionais adotados para o ICP-MS (Varian 820-MS).....	22
TABELA 2 – Programa de aquecimento do forno com radiação micro-ondas.....	23
TABELA 3 – Possíveis interferências na determinação de Cr, As, Se, Cd e Pb.....	24
TABELA 4 – Teores determinados dos analitos no GBW – 08571 para avaliação da exatidão	26
TABELA 5 – Teores de As, Cr e Se (mg kg^{-1}) determinados nas amostras de coxa, fígado, peito e água de descongelamento de frangos comerciais com a utilização da CRI.	27
TABELA 6 – Teores de As, Cr e Se (mg kg^{-1}) determinados nas amostras de ração e amostras de frangos com a utilização da CRI (H_2 80 mL min^{-1} (As, Se) e He 80 mL min^{-1} (Cr))......	29
TABELA 7 – Teores de As, Cr e Se (mg kg^{-1}) determinados nas amostras de cama de frango do 1º ao 45º dias do ciclo de crescimento com a utilização da CRI.....	30
TABELA 8 – Teores de As, Cr e Se (mg kg^{-1}) determinados nas amostras de farinha de vísceras e óleo de vísceras com a utilização da CRI.	32
TABELA 9 – Teores de As, Cr e Se (mg kg^{-1}) determinados nas amostras de ração de frango com a utilização da CRI.....	33
TABELA 10 – Programa de aquecimento do forno com radiação micro-ondas empregado na pressurização com oxigênio.....	36
TABELA 11 – Parâmetros operacionais adotados para o ICP OES com configuração axial para determinação de C	37
TABELA 12 – Parâmetros operacionais adotados para o ICP – MS (Elan®-PerkinElmer).....	38
TABELA 13 – Teores determinados e certificados de As e Se no DORM-2 para avaliação da exatidão do método proposto.....	40

TABELA 14 – Teores de As determinados nas amostras de ração de frango por ICP-MS empregando pressurização com oxigênio e adição de H ₂ O ₂ ..	42
TABELA 15 – Teores de Se determinados nas amostras de ração de frango por ICP-MS empregando pressurização com oxigênio e adição H ₂ O ₂	42
TABELA 16 – Parâmetros operacionais adotados para no GF AAS.....	52
TABELA 17 – Programa de aquecimento empregado no GF AAS	52
TABELA 18 – Programa de aquecimento empregado no forno com cavidade para digestão das amostras.....	53
TABELA 19 – Teores de cromo (mg kg ⁻¹) determinado no material de referencia certificado (GBW – 08571).....	56
TABELA 20 – Teores de cromo total determinados (mg kg ⁻¹) nas amostras sem a utilização da CRI e com a utilização da CRI.....	56
TABELA 21 – Teores de Cr(VI) (mg kg ⁻¹) determinados por ICP-MS com CRI e por GF AAS	57
TABELA 22 – Parâmetros operacionais adotados para o HPLC	66
TABELA 23 – Determinação dos teores de As (mg kg ⁻¹) em amostra de ração de frango, após extração empregando radiação micro-ondas e com a utilização do padrão de interferência (⁸³ Kr ⁺).....	75
TABELA 24 – Teste de adição e recuperação com e sem o emprego de padrão de interferência.	78
TABELA 25 – Parâmetros operacionais adotados para o ICP OES.	84
TABELA 26 – Variáveis, níveis e matriz de experimentos empregados no planejamento fatorial.....	92
TABELA 27 – Variáveis, níveis e matriz de experimento empregados no planejamento experimental composto central	94
TABELA 28 – Parâmetros analíticos obtidos com emprego do nebulizador <i>Flow-Blurring</i> [®]	100
TABELA 29. Determinação dos teores de iodo em amostras de sal de cozinha.....	101

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. Teores de carbono residual nos digeridos empregando a pressurização e/ou adição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). 39
- FIGURA 2 - Efeito da concentração de CFA-C na ocorrência de interferência poliatômica sobre os isótopos de cromo ($50 \mu g L^{-1}$). 54
- FIGURA 3 - Efeito da adição de gases nos cones de amostragem e skimmer para minimização de interferências no isótopo $^{53}Cr^+$ em meio CFA-C ($1,0 \% v v^{-1}$). 54
- FIGURA 4. Espectro de fundo obtido por ICP-MS de uma solução tampão de fosfato $12,5 mmol L^{-1}$ sem o emprego da CRI região de massa/carga 0 a 100. 68
- FIGURA 5. Espectro de fundo obtido por ICP-MS de uma solução tampão de fosfato $12,5 mmol L^{-1}$ sem o emprego da CRI região de massa/carga 70 a 80. 68
- FIGURA 6. Espectro de fundo obtido por ICP-MS de uma solução tampão de fosfato $12,5 mmol L^{-1}$ com a introdução de H_2 $60 mL min^{-1}$ no cone skimmer região de massa/carga 0 a 100. 69
- FIGURA 7. Espectro de fundo obtido por ICP-MS de uma solução tampão de fosfato $12,5 mmol L^{-1}$ com a introdução de H_2 $60 mL min^{-1}$ no cone skimmer região de massa/carga 70 a 80. 69
- FIGURA 8. Espectro de fundo obtido por ICP-MS da solução tampão fosfato $12,5 mmol L^{-1}$ com a introdução de H_2 $80 mL min^{-1}$ no cone skimmer região de massa/carga 0 a 100. 70
- FIGURA 9. Espectro de fundo obtido por ICP-MS da solução tampão fosfato $12,5 mmol L^{-1}$ com a introdução de H_2 $80 mL min^{-1}$ no cone skimmer região de massa/carga 70 a 80. 70
- FIGURA 10. Cromatograma de uma solução contendo as espécies de arsênio para separação das espécies em função do tempo de retenção sem a utilização da CRI. 72

- FIGURA 11. Cromatograma de uma solução contendo as espécies de arsênio para separação das espécies em função do tempo de retenção com a utilização da CRI com um fluxo de 80 mL min^{-1} de H_2 72
- FIGURA 12. Cromatograma obtido em pH 5,6 e concentração da fase móvel igual a $12,5 \text{ mmol L}^{-1}$, coluna de troca aniônica, tempo de extração de 30 min para amostra de ração pertencente ao primeiro 1º dia do ciclo produtivo..... 74
- FIGURA 13. Cromatograma obtido em pH 5,6 para o material de referência certificado (DORM-2) com concentração da fase móvel de $12,5 \text{ mmol L}^{-1}$ e com emprego do padrão de interferência ($^{83}\text{Kr}^+$). 77
- FIGURA 14. Fotografia do Multinebulizador *Flow-Blurring*[®] empregado no desenvolvimento deste trabalho: a) tubos para introdução das soluções empregadas no trabalho; b) saída do nebulizador. 85
- FIGURA 15. Intensidade de sinais de emissão de iodo usando os seguintes meios para a formação de espécies voláteis: experimento 1) Reação com H_2O ; experimento 2) Reação de oxidação e redução on-line (NaBH_4 ; H_2O_2 e HNO_3); experimento 3) Reação de Oxidação (HCl e H_2O_2); experimento 4) Reação de Redução (NaBH_4 e HCl). 90
- FIGURA 16. Fotografia da câmara de nebulização e imagem do interior da câmara de nebulização..... 91
- FIGURA 17. Principais efeitos do planejamento fatorial empregado na geração e determinação das espécies voláteis de iodo..... 93
- FIGURA 18. Superfície de respostas obtidas na otimização dos parâmetros para a geração de espécies voláteis de iodo empregando FBMN para a introdução da amostra. Figura (a) foi fixada a variável concentração de H_2O_2 , e obtida a melhor condição para as variáveis: fluxo do gás de nebulização e potência; (b) foi fixada a variável potência, e obtida a melhor condição para as variáveis fluxo do gás de nebulização e concentração de H_2O_2 ; (c) foi fixada a variável fluxo do gás de nebulização, e obtida a melhor condição para as variáveis potência e concentração de H_2O_2 95
- FIGURA 19. Comportamento dos padrões internos avaliados na presença dos concomitantes na concentração descrita de 1:1 de ambos concomitantes estudados..... 97

FIGURA 20. Comportamento do padrão interno Ge 209 ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$) na presença do interferente NaCl, empregando o nebulizador *Micromist*[®] ... 98

FIGURA 21. Comportamento do padrão interno Ge 209 ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$) na presença do interferente NaCl, empregando o multinebulizador *Flow-Blurring*[®] 99

AValiação de Métodos empregando Plasma ACOPLADO INDUTIVAMENTE PARA DETERMINAÇÃO DE CONSTITUINTES INORGÂNICOS NO CICLO PRODUTIVO DO FRANGO DE CORTE E IODO EM SAL DE COZINHA

O objetivo desta tese de doutorado foi o desenvolvimento de procedimentos para a determinação dos teores totais de arsênio, cádmio, chumbo, selênio e cromo em amostras do ciclo produtivo do frango de corte e iodo em amostras de sal de cozinha empregando técnicas com plasma acoplado indutivamente. A especiação química de arsênio e cromo também foi estudada. O primeiro estudo foi realizado empregando radiação micro-ondas e ácido nítrico e determinação por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) com interface de reação e colisão. O segundo procedimento foi realizado empregando radiação micro-ondas e pressurização dos frascos reacionais com oxigênio, visando regenerar ácido nítrico e aumentar a eficiência da digestão. O teor de carbono residual nos digeridos variou de 500 a 900 mg L⁻¹ podendo-se inferir a adequada eficiência de digestão. Posteriormente, a análise de especiação foi aplicada para obtenção de informações sobre mobilidade, biodisponibilidade e essencialidade de arsênio e cromo. Assim, a análise de especiação de arsênio em amostras de ração de frango empregando radiação micro-ondas para o preparo de amostra foi investigada. A espécie de arsênio presente nesse tipo de amostra foi As(V) com concentração de $0,35 \pm 0,06$ mg kg⁻¹. Em outro estudo, a especiação de cromo com preparo de amostra em meio alcalino foi avaliada, pois não ocorre a interconversão das espécies de Cr(VI) e Cr(III) em meio alcalino. Esse procedimento foi realizado empregando uma solução de aminas terciárias solúveis em água (CFA-C 10% v v⁻¹). As concentrações de Cr(VI) nas amostras variaram de 8,09 a 10,56 mg kg⁻¹. Por fim, para melhorar a sensibilidade na determinação de iodo por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) o emprego do multinebulizador *flow-blurring*[®] foi avaliado. A elevada energia de ionização do iodo implica em uma baixa ionização desse elemento no plasma e a absorção da radiação emitida na região do VUV por componentes do ar, tais como oxigênio e vapor de água, dificultam a determinação desse elemento por ICP OES. Uma das alternativas para melhorar a eficiência de nebulização e atomização do analito e, conseqüentemente, os limites de detecção para a determinação de iodo é gerar espécies voláteis (I₂ ou HI) empregando agentes oxidantes e redutores. Neste procedimento a formação das espécies voláteis de iodo foi estudada utilizando o multinebulizador *flow-blurring*[®] e agentes oxidantes e redutores. A concentração de iodo determinada na amostra foi de 131 mg kg⁻¹.

EVALUATION OF METHODS USING INDUCTIVELY COUPLED
PLASMAS FOR DETERMINATION OF INORGANIC ELEMENTS IN
CHICKEN PRODUCTION-RELATED SAMPLES AND IODINE IN
TABLE SALT

The aim of this thesis was the development of procedures for the determination of total arsenic, selenium and chromium in chicken production-related samples and iodine in table salt using inductively coupled plasma methods. The chemical speciation of arsenic and chromium was also studied. In the first study, microwave-assisted digestion was performed using diluted nitric acid solution followed by determination using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) with a collision-reaction interface. In this procedure sample preparation was performed using microwave-assisted digestion with nitric acid for determinations of the elements. The second procedure was performed microwave-assisted digestion using reaction vessels pressurized with oxygen in order to regenerate nitric acid and increase the efficiency of digestion with the addition of an auxiliary reagent. Residual carbon contents determined in digests varied from 500 to 900 mg L⁻¹. Afterwards, speciation analysis was applied for obtaining information about mobility, bioavailability and essentiality of arsenic and chromium. Thus, the speciation analysis of arsenic in chicken feed samples employing microwave-assisted extraction was investigated. The specie found was As(V) with concentration of 0.35 ± 0.06 mg kg⁻¹. In another study, chromium speciation with sample preparation in alkaline medium was evaluated, since studies in literature showed that no interconversion occurs between Cr(VI) and Cr(III) in alkaline medium. This procedure was performed using water-soluble tertiary amines solution (CFA-C 10% v v⁻¹) for Cr(VI) determination. The concentration of Cr(VI) in the samples ranged from 8.09 to 10.56 mg kg⁻¹. Finally, the improvement of the sensitivity in the determination of iodine by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) using *the flow-blurring*[®] multinebulizer was evaluated. The high ionization energy of iodine implies in a low ionization of this element in the argon plasma and the absorption of radiation in the VUV region by components of air, such as oxygen and water vapor, hamper this element determination by ICP OES. One alternative for improving the efficiency of nebulization and atomization of the analyte and hence the detection limits for the determination of iodine is the generation of volatile species (I₂ or HI) employing oxidizing agents and reducing agents. This study was performed using sodium tetrahydroborate in alkaline medium (reducing agent) and hydrogen peroxide (oxidizing agent) in acid medium and *flow-blurring*[®] multinebulizer. The concentration of iodine in one salt sample was 131 mg kg⁻¹.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 – Considerações sobre o ciclo produtivo do frango de corte e a ocorrência de elementos potencialmente tóxicos	1
1.1.1 – Elementos de interesses neste estudo	3
1.1.1.1 – Arsênio	3
1.1.1.2 – Cádmio	3
1.1.1.3 – Chumbo	4
1.1.1.4 – Crômio	5
1.1.1.5 – Selênio	6
1.1.1.6 – Técnicas comumente empregadas para a determinação de elementos	6
1.2 – Considerações sobre o iodo	8
2 – OBJETIVOS	9
3 – PREPARO DE AMOSTRA EMPREGANDO ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO E OXIGÊNIO PARA A DETERMINAÇÃO DE CONSTITUINTES INORGÂNICOS POR ICP-MS	10
3.1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3.2-PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL EMPREGANDO SOLUÇÕES DE ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO.....	18
3.2.1 – Equipamentos e Acessórios	18
3.2.2 – Soluções e Reagentes.....	18
3.2.3 – Amostras	19
3.2.4 - Descontaminação dos materiais.....	20
3.2.5 – Procedimento de preparo das amostras	20
3.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO PARA O PROCEDIMENTO EMPREGANDO ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO (7 mol L ⁻¹).....	23

3.3.1- Avaliação da exatidão do procedimento desenvolvido	25
3.3.2- Determinação dos teores de As, Cr e Se nas amostras relacionadas ao ciclo produtivo de frango de corte	26
3.3.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO PARA O PROCEDIMENTO EMPREGANDO ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO (2 mol L^{-1}).....	33
3.4 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA AVALIAÇÃO DA DIGESTÃO USANDO PRESSURIZAÇÃO COM OXIGÊNIO	34
3.4.1 – Equipamentos e Acessórios	34
3.4.2 – Soluções e Reagentes.....	35
3.4.3 – Amostras	35
3.4.4 – Procedimento.....	35
3.5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO EMPREGANDO PRESSURIZAÇÃO COM OXIGÊNIO.....	39
3.5.1- Avaliação da eficiência de digestão	39
3.5.2- Avaliação da exatidão do procedimento desenvolvido	40
3.5.3- Determinação dos teores de As, Cr, Se, Cd e Pb nas amostras relacionadas ao ciclo produtivo de frango de corte com emprego da pressurização com O_2	41
3.6 – CONCLUSÕES PARCIAIS	43
4 – ESPECIAÇÃO REDOX DE CRÔMIO	45
4.1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	45
4.2 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	49
4.2.1 – Equipamentos e Acessórios	49
4.2.2 – Soluções e Reagentes.....	50
4.2.3 – Amostras	50
4.2.4 - Descontaminação dos materiais.....	51
4.2.5 – Procedimento para Especiação Redox de Cr	51

4.2.6 – Procedimento para determinação de Cr total.....	52
4.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.3.1 – Efeito do CFA-C sobre a ocorrência de interferência espectral	53
4.3.2 – Determinação do teor de cromo total	55
4.3.3 – Determinação do teor de Cr(VI) nas amostras após extração com CFA-C	57
4.4 – CONCLUSÕES PARCIAIS	58
5 – ESPECIAÇÃO DE ARSÊNIO	59
5.1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	59
5.2 – Equipamentos e Acessórios	64
5.2.1 – Soluções e Reagentes.....	64
5.2.2 – Amostras	65
5.2.3 - Descontaminação dos Materiais	65
5.2.4 – Procedimento Experimental.....	65
5.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
5.3.1 - Obtenção dos espectros de fundo por ICP-MS para as soluções extratoras empregadas na especificação de As.....	67
5.3.2 – Especificação empregando radiação micro-ondas no preparo de amostras	73
5.3.3 – Avaliação da exatidão do procedimento desenvolvido.....	76
5.4 – CONCLUSÕES PARCIAIS	78
6 – GERAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES VOLÁTEIS DE IODO UTILIZANDO MULTINEBULIZADOR <i>FLOW BLURRING</i> [®]	79
6.1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	79
6.2 – Equipamentos e Acessórios	82
6.2.1 – Multinebulizador <i>Flow-Blurring</i> [®]	83

6.2.2 – Soluções e reagentes	85
6.2.3 – Amostras	86
6.2.4 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	86
6.2.4.1 – Estudo do reagente.....	86
6.2.4.2 – Planejamento Experimental	87
6.2.4.3 – Avaliação do efeito de concomitantes	87
6.2.4.4 – Determinação de iodo em amostras de sal de cozinha.....	88
6.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
6.3.1 – Estudo do reagente	89
6.3.2 – Estudo das variáveis significativas.....	91
6.3.3 – Otimização das variáveis significativas	93
6.3.4 – Avaliação do efeito de concomitantes.....	96
6.3.5 – Parâmetros analíticos	99
6.3.6 – Aplicações.....	101
6.4 – CONCLUSÕES PARCIAIS	102
7 – CONCLUSÕES GERAIS.....	104
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106

1 – INTRODUÇÃO

Esta tese está dividida em quatro partes distintas, referente aos quatro estudos realizados ao longo do doutorado: (1) preparo de amostra empregando ácido nítrico diluído e pressurização com oxigênio para a determinação de constituintes inorgânicos por ICP-MS, (2) especiação redox de cromo, (3) especiação de arsênio e (4) geração e determinação de espécies voláteis de iodo utilizando multinebulizador *Flow Blurring*[®].

A primeira parte sobre preparo de amostras se subdivide em três experimentos: o primeiro com o emprego de soluções de ácido nítrico diluído 7 mol L⁻¹, o segundo com emprego de soluções de ácido nítrico diluído 2 mol L⁻¹ e o terceiro experimento consistiu na pressurização dos frascos reacionais com oxigênio.

Desta maneira cada capítulo consiste de uma breve revisão bibliográfica, procedimento experimental, resultados e discussão e conclusões parciais. Ao final do último capítulo, apresenta-se uma conclusão geral.

1.1 – Considerações sobre o ciclo produtivo do frango de corte e a ocorrência de elementos potencialmente tóxicos

O consumo de carne de frango de corte tem apresentado um crescimento considerável nos últimos anos e como reflexo houve um expressivo aumento na produção de aves para o consumo humano, tornando-se um grande atrativo no mercado econômico mundial. No ano de 2011 a produção de carne de frango foi de 13,058 milhões de toneladas, apresentando um crescimento de 6,8% com relação ao ano de 2010. O Brasil por sua vez ocupa uma posição de destaque nesse mercado, atuando

como um grande exportador de carne de frango ficando atrás apenas dos Estados Unidos e China ^[1].

O êxito da cadeia produtiva do frango de corte é extremamente dependente dos cuidados com a ração que alimenta as aves. Uma das estratégias adotadas diz respeito ao uso do estimulante organoarsênico denominado roxarsone (*i.e.* ácido 3-nitro-4-hidroxifenilarsênico) na alimentação das aves, o qual garante melhor pigmentação da carne, promove a aceleração do crescimento, aumenta o peso das aves e elimina os parasitas causadores de potenciais doenças. O problema relacionado ao uso desse estimulante na alimentação das aves é que sob condições anaeróbicas no organismo ou até mesmo no ambiente pode ocorrer a conversão de arsênio orgânico em formas inorgânicas, as quais são consideradas tóxicas mesmo em baixas concentrações na ordem de $\mu\text{g g}^{-1}$ ou $\mu\text{g kg}^{-1}$ ^[2].

Assim, é importante monitorar a concentração de arsênio no ciclo produtivo de frango de corte, uma vez que a presença de arsênio na carne, cama de frango ou até mesmo na ração pode ser um indicativo de possível fonte de contaminação para o ambiente e/ou cadeia alimentar ^[3-4]. Outros elementos que devem ser monitorados considerando-se possíveis efeitos nutricionais na cadeia produtiva do frango de corte são Cd, Cr, Pb e Se, pois são elementos potencialmente tóxicos ou essenciais de acordo com a concentração presente na amostra.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece um limite máximo aceitável de cromo de $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ em qualquer tipo de alimento. Para cádmio esse limite máximo aceitável pode variar de 0,2 a $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de acordo com o tipo de alimento, para chumbo essa variação pode ser de 0,05 a $2,0 \text{ mg kg}^{-1}$ dependendo do tipo de alimento (*in-natura*

ou industrializado) e para selênio é prescrito um valor máximo de 0,05 mg kg⁻¹ para alimentos sólidos e 0,30 mg kg⁻¹ para alimentos líquidos.

1.1.1 – Elementos de interesses neste estudo

1.1.1.1 – Arsênio

O elemento arsênio está contido em uma variedade de minerais, sendo o mais comum a arsenopirita. Esse elemento pode estar presente na água e no solo, podendo ser utilizado na agricultura ou na indústria como conservante de madeira para evitar a deterioração e ataque de insetos ^[5].

O arsênio apresenta um comportamento químico diversificado no ambiente natural e ocorre em quatro estados de oxidação: arsenato (+5), arsenito (+3), arsina (-3) e na forma elementar (0). Contudo, as espécies solúveis geralmente ocorrem nos estados de oxidação +3 e +5. A toxicidade dos compostos de arsênio diminui da seguinte forma: arsênio inorgânico (III), arsênio orgânico (III), arsênio inorgânico (V), compostos orgânicos pentavalentes (V), compostos metilados de arsênio ^[6-7].

A exposição a esse elemento pode ser causada por inalação, absorção e ingestão. A ingestão de alimentos contaminados ou água contaminada é responsável por 75% da exposição a esse elemento ^[6]. A maior fonte de exposição humana é a contaminação por água potável proveniente de fontes geológicas naturais, mas se tem observado que fontes antrópicas, como o uso de pesticidas ou fertilizantes, também contribuem para a exposição local ^[8].

1.1.1.2 – Cádmio

O cádmio é um elemento relativamente raro. Pertence ao grupo do zinco na tabela periódica juntamente com o mercúrio e apresenta algumas

características similares ao zinco. As principais fontes naturais de Cd são o vulcanismo e o intemperismo de rochas sedimentares, por outro lado, as principais fontes antrópicas são as atividades agrícolas e as atividades industriais^[9].

Nas condições naturais, pode apresentar concentrações entre 0,1 a 0,4 mg kg⁻¹ tanto no ar quanto na água e no solo. É bioacumulativo e persistente no ambiente, apresentando elevado potencial tóxico. O limite de ingestão semanal de Cd é de 7 µg kg⁻¹ de massa corpórea e a exposição humana ocorre principalmente pelo consumo de alimentos e/ou água contaminada e tabagismo^[10-12]. No organismo humano pode ser acumulado nos órgãos como fígado, podendo comprometer o sistema cardiovascular e hematológico. Quando o Cd atinge o sistema respiratório, esquelético ou renal pode causar enfisema pulmonar, osteoporose ou cálculos renais, respectivamente^[13].

1.1.1.3 – Chumbo

O elemento chumbo ocorre de forma natural na crosta terrestre, podendo ser encontrado em vários tipos de rochas, sendo a galena (PbS) o mineral mais comum. Pode ser encontrado em dois estados de oxidação (II) e (IV). As principais fontes de contaminações naturais são o vulcanismo e o intemperismo, no entanto, as atividades de mineração, transporte e industrial são consideradas fontes de contaminação antrópica^[14]. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO - World Health Organization), o limite máximo aceitável em água potável é de 10 µg L⁻¹. O Pb não é considerado um elemento essencial, porém apresenta alguns efeitos tóxicos. A exposição ao Pb pode comprometer o sistema hepático e renal causando hepatite e nefropatia crônica, respectivamente^[12,15]. O Pb, mesmo em baixas concentrações, interfere no metabolismo humano

podendo afetar diversos processos metabólicos e causar intoxicações. A intoxicação por Pb em longo prazo denomina-se saturnismo ou plumbismo. A tolerância de ingestão semanal para Pb é de $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ de massa corpórea ^[11]. Os alimentos, incluindo água potável e bebidas alcoólicas, são as maiores fontes de exposição da população ao Pb. Crianças podem ter exposição adicional causada por solo e poeira ^[14].

1.1.1.4 – Crômio

O elemento crômio pode ser considerado essencial ou tóxico, dependendo da quantidade e da forma química. A espécie Cr(VI) é mais tóxica que Cr(III) e é absorvido mais facilmente pelo organismo ^[14].

O Cr(III) é considerado essencial, pois está relacionado ao aproveitamento de proteínas e gorduras pelo organismo. Sua deficiência pode causar diminuição na taxa de crescimento, opacidade córnea, baixa massa nos recém nascidos e baixa tolerância à glicose. Uma dieta de $50 - 200 \mu\text{g}$ de Cr(III) por dia é recomendada para adultos ^[16].

Os alimentos que normalmente contêm Cr são ameixa, cenoura, ervilha, manteiga, nozes, ostras, cogumelos, grãos integrais, levedo, vinho tinto, cevada e brócolis, sendo que os vegetais apresentam de 30 a $140 \mu\text{g kg}^{-1}$, frutos do mar $120-470 \mu\text{g kg}^{-1}$, grãos e cereais de $40-220 \mu\text{g kg}^{-1}$ e carnes e peixes $110-230 \mu\text{g kg}^{-1}$ de Cr ^[17].

O Cr(VI) é considerado tóxico e a exposição crônica ou a longo prazo pode causar câncer de pulmão. Além disso, a doença pode surgir mesmo depois de um longo período após o fim da exposição. Por outro lado, elevadas doses também podem causar câncer no fígado, rins, leucemia e lesões mutagênicas.

1.1.1.5 – Selênio

O elemento selênio apresenta uma abundância média de $0,09 \text{ mg kg}^{-1}$ na crosta terrestre e é comumente encontrado nos estados de oxidação (-II), (IV) e (VI). Pode ser considerado um elemento essencial ou tóxico, dependendo da espécie química presente na amostra ^[10]. A dose diária recomendada para homens de 70 kg de massa corpórea é de 70 μg , já para mulheres de 60 kg de massa corpórea a dose recomendada é de 55 μg . A deficiência desse elemento pode causar anemia, infertilidade, câncer, artrite, distúrbio muscular e a doença de Keshan, que foi descrita pela primeira vez na cidade de Keshan, localizada na zona rural da China. Os sintomas dessa doença incluem isquemia do miocárdio, edema pulmonar, eletrocardiograma anormal e cardiomegalia ^[18].

1.1.1.6 – Técnicas comumente empregadas para a determinação de elementos-traço

Um problema encontrado na determinação de elementos, tais como As, Cd, Cr, Pb e Se, é a baixa concentração presente na amostra o que exige o emprego de técnicas com alta sensibilidade. Existem várias técnicas instrumentais que podem ser utilizadas para a determinação desses elementos em amostras de água, solos e alimentos, tais como a espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) ^[19], espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) ^[20-21], espectrometria de fluorescência atômica (AFS) ^[22], espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG-AAS) ^[23-24] e a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS) ^[25-27].

1.1.1.7 – Especiação Química

A concentração total de um elemento não fornece informações suficientes a respeito de sua mobilidade, biodisponibilidade e o impacto que o mesmo pode causar em organismos biológicos ou sistemas ecológicos. Apenas o conhecimento a respeito das espécies químicas dos elementos leva a um melhor entendimento sobre as reações químicas e bioquímicas que envolvem essas espécies, proporcionando dessa maneira mais informações sobre sua essencialidade ou toxicidade. De acordo com a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), o termo análises de especiação é definido como a atividade analítica capaz de identificar e/ou medir as quantidades de uma ou mais espécies químicas presentes nas amostras [28-30].

Uma análise de especiação é caracterizada pelas seguintes etapas: amostragem, preparo de amostra, determinação das espécies de interesse e tratamento dos dados analíticos. A etapa mais laboriosa é o preparo de amostra, especialmente quando se trata de uma amostra complexa. Essa etapa pode ser responsável pela introdução de cerca de 50% dos erros e consumir 60% do tempo total da análise. Esses percentuais podem ser ainda maiores quando se referem à especiação química, pois a etapa de amostragem, distribuições heterogêneas das espécies, baixas concentrações do analito e complexidade da matriz aumentam as possibilidades de erros. Sendo assim, a etapa de preparo de amostra é considerada crítica na especiação química [31-33].

O procedimento desenvolvido para a especiação é fortemente dependente da natureza da amostra, do analito e da precisão e exatidão almejadas. Cuidados para evitar perdas do analito, contaminações, erros e, especialmente, degradação da espécie original, como mudanças de estado

de oxidação, devem ser considerados para que resultados exatos sejam alcançados [30-33].

1.2 – Considerações sobre o iodo

O iodo é considerado um micronutriente essencial para a saúde do ser humano por apresentar um papel importante no funcionamento da glândula tireoide. Várias doenças podem estar associadas à deficiência de iodo, dentre elas podem ser citadas: dano cerebral, retardo mental e em mulheres grávidas pode causar aborto. Já o excesso de iodo pode ocasionar perda de peso, taquicardia e hipertiroidismo. Uma boa fonte de iodo, por exemplo, é o sal de cozinha, na qual o iodo é adicionado na forma de iodeto de potássio ou iodato de potássio, sendo recomendado a adição de iodato de potássio por ser mais estável que o iodeto em países de clima tropical [34].

Nos países europeus, a ingestão diária recomendada de iodo é de 150 µg para adultos, 200 µg para grávidas e 290 µg para mulheres lactantes. No entanto, em vários países foram identificados distúrbios referentes à deficiência de iodo principalmente em mulheres grávidas e lactantes, o que levou os governos a adotarem medidas de adição de suplementos de iodo ao sal para consumo humano. Estudos mostraram que a concentração de iodo aumentou significativamente no leite materno após a suplementação realizada [35].

A determinação de iodo empregando ICP OES apresenta algumas limitações no que diz respeito à sensibilidade, devido ao sistema de introdução de amostras comumente empregado ocasionando efeitos de memória e instabilidade do sinal analítico. Essa determinação poderia ser aperfeiçoada pela formação e introdução de espécies voláteis de iodo [36-37].

2 – OBJETIVOS

Esta tese de doutorado teve como objetivos:

- Desenvolvimento de procedimento analítico para avaliar a ocorrência de As, Cd, Cr, Pb e Se em amostras relacionadas ao ciclo produtivo do frango de corte empregando ICP-MS e avaliar o procedimento de preparo de amostras para a determinação dos teores totais de As, Cd, Cr, Pb e Se empregando ácido nítrico diluído, pressurização dos frascos reacionais com oxigênio e, ainda, adição de H₂O₂ como fonte de oxigênio nas decomposições das amostras;
- Realizar a análise de especiação química de As e Cr para que assim possam ser inferidas informações sobre a toxicidade e essencialidade desses elementos nas amostras do ciclo produtivo de frango de corte;
- Melhorar a sensibilidade na determinação de iodo por ICP OES empregando um multinebulizador *Flow-Blurring*[®] para geração de espécies voláteis e aplicar o método desenvolvido para a determinação de iodo em sal de cozinha.

3 – PREPARO DE AMOSTRA EMPREGANDO ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO E OXIGÊNIO PARA A DETERMINAÇÃO DE CONSTITUINTES INORGÂNICOS POR ICP-MS

3.1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O preparo de amostras é uma etapa importante no intuito de desenvolver procedimentos na prática da química verde, que consiste na utilização de poucos reagentes e, conseqüentemente, na mínima geração de resíduos tóxicos.

A possibilidade de diminuir o consumo de reagentes utilizado na digestão da amostra é um aspecto positivo de procedimentos empregando soluções de ácidos diluídos, uma vez que minimizam-se os resíduos gerados, diminui-se a periculosidade e geram-se menores valores de brancos analíticos. Assim, a utilização de ácidos diluídos no preparo de amostras é uma alternativa à estratégia convencional que consiste na utilização de soluções de ácidos concentrados [37].

Procedimentos que utilizam pequeno volume de ácido ou solução de ácido diluído necessitam da adição de um agente oxidante para aumentar o poder oxidante da mistura empregada. Nesses casos, o agente oxidante mais empregado é o H_2O_2 , pois estudos comprovaram a diminuição no teor de carbono residual, aumentando assim a eficiência da digestão das amostras quando comparado com outras misturas ácidas empregadas ou até mesmo outros procedimentos de preparo de amostras para posterior determinação com técnicas espectroanalíticas [38].

Em 2002, Araújo *et al.* estudaram a eficiência da digestão ácida assistida por radiação micro-ondas de tecidos vegetais empregando

diferentes concentrações ácidas, *i.e.* 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 7,0 e 14,0 mol L⁻¹ de HNO₃. Os teores de carbono orgânico residual, acidez residual e a recuperação dos elementos nos materiais de referência certificados foram avaliados. A utilização da solução de HNO₃ 2,0 mol L⁻¹ foi eficiente para a recuperação dos principais analitos e apresentou menor variedade de compostos orgânicos residuais comparativamente à solução de ácido nítrico concentrado que apresentou compostos orgânicos aromáticos e alifáticos, sendo que os compostos alifáticos estavam presentes em maiores concentrações do que os aromáticos, indicando a ocorrência do processo oxidativo convertendo moléculas complexas em moléculas simples. Assim, o ácido concentrado sob altas temperaturas tem uma elevada energia oxidante, por outro lado soluções ácidas diluídas não têm uma elevada ação oxidante, mas com emprego de temperaturas altas exibem um ação eficiente na digestão [39].

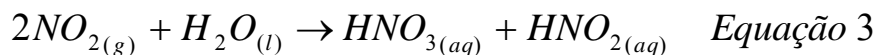
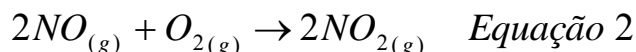
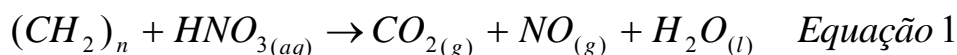
Gonzalez *et al.* realizaram um estudo empregando ácido nítrico diluído no preparo das amostras orgânicas, no entanto a eficiência desse preparo depende das propriedades químicas das amostras. Os experimentos foram realizados empregando misturas oxidantes compostas por: 14,0; 7,0 e 2,0 mol L⁻¹ HNO₃ e adição de 1,0 mL de H₂O₂ 30% (m m⁻¹). A eficiência da digestão foi avaliada determinando-se teor de carbono residual presente no digerido e pelas recuperações de Ca, Fe, K, Mg, Na, P e Zn. A identificação dos isômeros do ácido nitrobenzóico presentes no resíduo foi feita empregando ressonância magnética nuclear de ¹H (RMN de ¹H) [40]. Em seguida, a separação dos compostos nitrobenzóicos foi realizada empregando a cromatografia líquida de fase reversa com pareamento iônico e detecção em 254 nm.

Nardi *et al.* em 2009, avaliaram a digestão de amostras de alimentos para a determinação de elementos essenciais e tóxicos por ICP-MS. Os

procedimentos avaliados foram: (I) 4,0 mL de HNO_3 14,0 mol L^{-1} ; (II) 4,0 mL de HNO_3 14,0 mol L^{-1} e 2,0 mL de H_2O_2 30% (m m^{-1}); (III) 4,0 mL de HNO_3 2,8 mol L^{-1} e 2,0 mL de H_2O_2 30% (m m^{-1}); (IV) 1,0 mL de HNO_3 14,0 mol L^{-1} e 3,0 mL de HCl 12 mol L^{-1} . Os autores relataram que o procedimento (III) foi mais eficiente para a digestão das amostras considerando-se os teores de carbono residual. Os autores ainda utilizaram Rh como padrão interno para correção do efeito de carga espacial e optaram por trabalhar com a equação de correção para corrigir as interferências isobáricas provenientes do carbono e cloro ^[41].

Recentemente Nóbrega *et al.* avaliaram a eficiência da digestão empregando um novo conceito em forno de micro-ondas. Esse consiste na utilização de uma câmara de reação única na qual é possível trabalhar com vários frascos contendo diferentes tipos de amostras e diferentes misturas ácidas sob elevadas temperaturas. Nesse trabalho, os autores digeriram diferentes materiais de referência certificados e avaliaram diferentes concentrações ácidas de HNO_3 (2,0; 4,0; 7,0 e 14,0 mol L^{-1}). Os autores relataram que a mistura digestora composta por 2,0 mol L^{-1} HNO_3 e 3,0 mL de H_2O_2 (30% m m^{-1}) foi eficiente para a digestão das amostras de acordo com o teor de carbono residual e a acidez residual determinada nos digeridos ^[42].

No intuito de aperfeiçoar o desempenho de digestões usando soluções de ácido nítrico diluído, um método de preparo de amostra tem sido proposto no qual se pode trabalhar sob altas pressões e elevadas temperaturas em frascos fechados sem diminuir a eficiência da digestão e sem a necessidade de acrescentar outros reagentes. Esse processo se baseia no ciclo de regeneração do ácido nítrico conforme as equações ^[43]:



Nesse processo o ácido nítrico diluído reage com a matéria orgânica presente na amostra gerando óxido nítrico (**NO**) (*Equação 1*) que, posteriormente, reage com o oxigênio presente na fase gasosa gerando dióxido de nitrogênio (**NO₂**) (*Equação 2*). O dióxido de nitrogênio sofre reação de desproporcionamento em meio aquoso gerando ácido nítrico (**HNO₃**) e ácido nitroso (**HNO₂**) (*Equação 3*). Posteriormente, o ácido nitroso se decompõe em óxido nítrico (**NO**) (*Equação 4*) e, em seguida, esse mesmo óxido nítrico reage com o oxigênio da fase gasosa (*Equação 2*), ocorrendo assim o ciclo de regeneração do ácido nítrico.

Em 2009, Castro *et al.* avaliaram dois procedimentos de digestão de amostras de café. Um procedimento foi baseado na digestão empregando forno de micro-ondas com cavidade e outro baseado no aquecimento condutivo de sistema fechado com bomba Parr. Em ambos os procedimentos, foram avaliados diferentes concentrações de HNO₃ (1,0; 1,7; 3,5; 7,0; 10,5; 14,0 mol L⁻¹) e adição de 1,0 mL de H₂O₂ 30% (m m⁻¹). Nos dois procedimentos avaliados compararam-se os valores de acidez residual e teor de carbono residual e nenhuma diferença significativa foi constatada para um nível de 95% de confiança. Os autores concluíram que o processo de digestão depende das reações que ocorrem entre as fases líquidas e gasosas e também na formação do NO e sua conversão para NO₂

tem um papel importante na oxidação da matéria orgânica. Esses processos são mais eficazes de ocorrer em frascos fechados com aquecimento assistido por radiação micro-ondas devido à existência do gradiente de temperatura que ocorre no procedimento ^[43].

Em 2010, Bizzi *et al.* investigaram a eficiência de digestão utilizando a pressurização dos frascos reacionais com O₂. Os autores efetuaram os experimentos empregando 0,1 e 0,5 g de material de referência de fígado bovino e avaliaram várias concentrações ácidas de HNO₃ (0,1; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 7,0 e 14,0 mol L⁻¹). Depois de fechados os frascos foram pressurizados com O₂ sob pressões de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 MPa de oxigênio. Os autores realizaram experimentos também sem o emprego da pressurização com O₂ e concluíram que as concentrações de HNO₃ iguais a 3,0; 2,0 e 1,0 mol L⁻¹ não foram eficientes na digestão das amostras. Quando foi empregada a pressurização com O₂, o teor de carbono residual foi de 11,7 e 13% para as decomposições empregando 3,0 e 2,0 mol L⁻¹ HNO₃, respectivamente. Os autores concluíram que a ação oxidante do HNO₃ pode ser prolongada se ocorrer o processo de regeneração do ácido, porém esse processo depende do oxigênio disponível na fase gasosa ^[44].

Em 2010, Matusiewicz & Staniz, avaliaram a digestão de amostras empregando radiação micro-ondas e pressurização com oxigênio para a determinação de Hg em amostras ambientais e biológicas por espectrometria de absorção atômica com vapor frio (CV AAS). Em uma alíquota de 0,25 g de amostra, adicionou-se 600 µL de HNO₃ 1,5 mol L⁻¹ e 350 µL de H₂O₂. Em seguida, os frascos foram pressurizados com 15 bar de O₂. O digerido foi diluído para 25 mL com água desionizada. Os autores avaliaram os efeitos das concentrações de HNO₃ (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mol L⁻¹), das concentrações de H₂O₂ (0,2; 0,4; 0,6 e 0,8 mol L⁻¹) e do tempo de digestão (3; 5; 6; 10; 12 e 15 min) e optaram por utilizar HNO₃

combinado com H_2O_2 na digestão das amostras para garantir uma posterior redução eficiente durante a etapa de geração de vapor frio. A exatidão do procedimento foi avaliada usando material de referência certificado e as recuperações de Hg variaram de 99 – 104% [45].

Bizzi *et al.* avaliaram a eficiência de digestão de amostras botânicas empregando solução de ácido nítrico diluído e pressurização com oxigênio nos frascos reacionais para a determinação de Al, Ca, Fe, K, Mg e Na em amostras de orégano. Alíquota de 0,5 g de amostras foram digeridas utilizando diferentes concentrações de HNO_3 (2,0; 3,0; 7,0 e 14,0 mol L⁻¹) e pressurização com O_2 (5; 10; 15 e 20 bar). Foram realizados experimentos sem a pressurização e, nesse caso, 3,0 mL de HNO_3 concentrado foi necessário para decompor as amostras de orégano. Soluções de ácido nítrico com concentração de até 3,0 mol L⁻¹ e 5,0 bar de oxigênio foram eficientes para a digestão das amostras. A exatidão do procedimento foi avaliada usando materiais de referência certificados BCR 62 (folha de oliveira); NIST 1515 (folhas de macieira); NIST 1547 (folhas de pessegueiro); NIST 1575^a (grãos de pinheiro) obtendo-se valores de recuperação de 95 a 104% para todos analitos. Os limites de detecção foram aperfeiçoados de 4; 14,5 e 5 vezes para Al, Ca e Na, respectivamente [46].

Em 2011, Bizzi *et al.* propuseram um procedimento com pressurização dos frascos reacionais para determinação de Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Pb e Zn por ICP OES e Hg por CVG-ICP-MS em amostras de leite em pó. Uma alíquota de 0,5 g de amostra foi utilizada e foram avaliadas diferentes concentrações de HNO_3 (1,0; 2,0; 3,0; 7,0 e 14,0 mol L⁻¹) e pressurização (2,5; 5; 7,5; 10; 15 e 20 bar de O_2). As melhores condições de digestão foram obtidas com concentrações ácidas de 2 mol L⁻¹ e 7,5 bar de O_2 . Além disso, também foram realizados experimentos sem a

pressurização e para que o ocorresse a digestão das amostras foi necessário a utilização de 7,0 mL de HNO_3 14,0 mol L^{-1} e 300 mg de amostras sob uma temperatura máxima de 200 °C. Usando pressurização, os teores de carbono residual determinados nos digeridos foram de até 1700 mg L^{-1} [47].

A espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) é uma das técnicas instrumentais que mais rapidamente ultrapassou o estágio protótipo para equipamento comercial, por apresentar as seguintes características, tais como capacidade multielementar, análise rápida e excelentes limites de detecção [48].

O princípio da espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente baseia-se no fato de que íons gasosos são gerados no plasma e transportados para o analisador de massa através da interface. No analisador de massas os íons são separados em função da razão massa/carga por campos elétricos e magnéticos que modificam as suas trajetórias [48-49].

Entretanto, alguns elementos são afetados por interferências isobáricas em espectrômetros de massa com arranjo quadrupolar. Por exemplo, a medida de $^{75}\text{As}^+$ é fortemente afetada pela presença de $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$. Outro exemplo seria a medida do isótopo $^{52}\text{Cr}^+$ que é afetada pela presença de $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$, sendo que a formação dessa última espécie decorre do íon $^{40}\text{Ar}^+$, por se tratar de um plasma formado pelo gás Ar, e do íon $^{12}\text{C}^+$ presente em compostos orgânicos residuais após a digestão das amostras. Para minimizar esses processos de interferência algumas estratégias podem ser empregadas, sendo elas: seleção de outro isótopo, utilização de plasma frio e tecnologia da célula de reação e colisão [48].

Em 2005 a empresa Varian (atual Bruker) propôs um ICP-MS dotado da interface de reação e colisão (CRI) para minimização dessas

possíveis interferências. No entanto dois aspectos diferenciam este arranjo quando comparados com os outros, são eles: a saída do skimmer e a entrada do espectrômetro de massa analisador estão configuradas em um ângulo de 90°. O segundo aspecto se refere à possível introdução de gases reacionais ou colisionais (H₂ ou He) a partir de aberturas nos cones que compõem essa interface (cone de amostragem ou skimmer) [50-51].

Em 2010, Pereira *et al.* avaliaram a utilização da CRI para minimizar interferências espectrais no sinal de ⁷⁵As⁺ e dos isótopos de Se com a introdução de H₂ e He através dos cones de amostragem e skimmer empregando ICP-MS. Os autores monitoraram as intensidades de sinal nas razões massa/carga dos sinais dos analitos em diferentes meios e concentrações de HNO₃ e HCl. Foi observado que a introdução de H₂ (80 mL min⁻¹) através do cone skimmer pode promover processos reacionais que ajudam a diminuir as intensidades de sinal das interferências sobre os sinais do ⁷⁵As⁺ e isótopos de Se. Também foi realizado um estudo com solução preparada em meio de CFA-C (mistura de aminas terciárias solúveis em água) como fonte de carbono e obteve-se uma melhora nos limites de detecção de ⁷⁵As⁺ e isótopos de Se, devido às reações de transferência de carga. Os autores sugeriram a utilização da CRI com introdução de 80 mL min⁻¹ de H₂ através do skimmer para minimização das interferências poliatômicas sobre ⁷⁵As⁺ e isótopos de Se [52].

Diante do exposto, o objetivo desta etapa do trabalho foi avaliar dois procedimentos experimentais. O primeiro consistiu na utilização de soluções de ácido nítrico diluído para digestão das amostras relacionadas ao ciclo produtivo de frango de corte. O segundo consistiu na utilização de ácido nítrico diluído e pressurização dos frascos reacionais. Além disso, nesse segundo procedimento também foi avaliado o emprego do peróxido de hidrogênio como fonte de oxigênio para a digestão das amostras.

3.2-PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL EMPREGANDO SOLUÇÕES DE ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO

3.2.1 – Equipamentos e Acessórios

- Liofilizador, modelo E-C Micrômiodulyo (Holbrook, EUA);
- Moinho criogênico MARCONI modelo MA775 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil);
- Balança analítica OHAUS, modelo AS200 (Ohaus Corporation, Florham Park, NJ, EUA);
- Forno com radiação micro-ondas ETHOS 1600 (Milestone, Sorisole, Itália);
- Espectrômetro de massas acoplado ao plasma induzido (Varian 820-MS, Mulgrave, Austrália) equipado com uma interface de reação e colisão (CRI);

3.2.2 – Soluções e Reagentes

Todas as soluções foram preparadas empregando reagentes de alta pureza analítica e água destilada-desionizada em sistema Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Para o preparo das soluções ácidas foram utilizados HNO₃ (Merck, Darmstadt, Alemanha) purificado no sistema de sub-destilação (SubPur, Milestone) e água destilada-desionizada purificada em sistema Milli-Q[®] (resistividade elétrica superior a 18 MΩ cm).

Soluções estoque (1000 mg L⁻¹) de As, Cd, Cr, Pb e Se (Tec-Lab, Hexis, São Paulo, Brasil) foram utilizadas na construção das curvas

analíticas de calibração. Peróxido de hidrogênio (Merck), foi utilizado no preparo de amostras e uma solução multielementar (Ba, Be, Ce, Co, In, Mg, Pb, Th e Tl) de 5 ng mL^{-1} (SpecSol, Jacareí, SP) foi usada para otimização diária do instrumento (alinhamento da tocha e calibração de massas). Todas as soluções e amostras foram preparadas e armazenadas em frascos de polipropileno previamente descontaminados.

Argônio líquido (XL-45, White Martins, Sertãozinho, SP) foi utilizado para a formação do plasma e os gases H_2 e He empregados na CRI são de grau analítico (99,999%) (White Martins, Sertãozinho, SP).

3.2.3 – Amostras

As amostras utilizadas neste trabalho foram obtidas em uma granja localizada na região central do estado de São Paulo e pertencentes aos 1º, 15º, 30º e 45º dias do ciclo da cadeia produtiva do frango de corte. Esses dias do ciclo foram sugeridos pelos produtores visando acompanhar diferentes fases do crescimento até o abate dos frangos. Todas as amostras foram previamente liofilizadas e moídas. As amostras foram coletadas em pontos distintos denominados A e B nas demarcações da granja. As amostras coletadas na granja foram de ração de frango, cama de frango e amostras de fígado, coxa e peito, essas últimas pertencentes ao frango do último dia do ciclo, após o abate. Amostras de óleo de vísceras, farinha de vísceras e frangos oriundos da Colômbia também foram analisadas. Verificou-se ainda o teor de arsênio em água proveniente do descongelamento de frangos comerciais adquiridos no comércio local. Para verificar a exatidão do procedimento para determinação dos teores totais foi analisado o material de referência certificado (mexilhão) GBW 08571 (National Research Center for Standard Materials, Beijing, China).

3.2.4 - Descontaminação dos materiais

Todo material utilizado, tais como vidrarias, ponteiros de micropipetas e tubos de polipropileno foram lavados com água corrente e, em seguida, com água destilada e depois foram imersos por 24 h em um banho com solução 10% (v v⁻¹) de HNO₃. Posteriormente, esses materiais foram lavados com água desionizada (Milli-Q) e secos em capela de fluxo laminar.

3.2.5 – Procedimento de preparo das amostras

Nesta etapa do trabalho, dois procedimentos foram empregados no preparo de amostras para determinação total dos constituintes inorgânicos. Ambos consistiam em promover a digestão ácida assistida por radiação micro-ondas com emprego de solução de ácido nítrico diluído utilizando 10 frascos de PFA no rotor do forno com cavidade. O primeiro procedimento foi desenvolvido empregando 5,0 mL de HNO₃ 7,0 mol L⁻¹ e 3,0 mL de H₂O₂ (30% m m⁻¹) para uma massa de amostra de aproximadamente 250 mg. O segundo procedimento foi desenvolvido empregando a mesma massa de amostra 5,0 mL de HNO₃ 2,0 mol L⁻¹ e 3,0 mL de H₂O₂ (30% m m⁻¹) e uma etapa de pré-digestão de 2 h (sem adição de H₂O₂) foi aplicada antes que a mistura fosse aquecida empregando radiação micro-ondas. Os digeridos de ambos os procedimentos foram diluídos para um volume final de 15,0 mL com água desionizada e, em seguida, foi realizada outra diluição onde se pegou 500 µL do digerido e dilui para 10,0 mL devido ao máximo teor de sólidos dissolvidos recomendável para ICP-MS, i.e. < 0,1% (m v⁻¹). Nas Tabelas 1 e 2 podem ser visualizados os parâmetros operacionais empregados no ICP-MS e o programa de aquecimento usado no forno de micro-ondas para os dois procedimentos testados.

Deve ser ressaltado que na execução do experimento empregando a concentração de ácido nítrico $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ realizou-se uma etapa de pré-digestão das amostras, ou seja, fez-se a adição do ácido e deixou em contato com as amostras por 2 h, em seguida adicionou-se o peróxido, e a mistura foi submetida à digestão por radiação micro-ondas. Essa estratégia foi adotada devido a não utilização do sensor de temperatura durante o ciclo de aquecimento.

TABELA 1 – Parâmetros operacionais adotados para o ICP-MS (Varian 820-MS)

Gerador de radiofrequência (MHz)	27
Potência aplicada (kW)	1,4
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	18
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,8
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,90
Câmara de nebulização	Scott-type
Nebulizador concêntrico	Seaspray
Temperatura da câmara de nebulização (°C)	3
Cone de amostragem	Ni
Cone skimmer	Ni
Pontos por picos	3
Amostras/Replicatas	5
Dwell time (ms)	10
Isótopos monitorados	⁷⁵ As ⁺ ; ⁵² Cr ⁺ ; ⁵³ Cr ⁺ ; ⁷⁸ Se ⁺ ; ⁸⁰ Se ⁺ ; ¹¹² Cd ⁺ ; ¹¹⁴ Cd ⁺ ; ²⁰⁸ Pb ⁺

TABELA 2 – Programa de aquecimento do forno com radiação micro-ondas

Etapa	Tempo (min)	Potência (W)	Temperatura (°C)
1	10	1000	180
2	10	1000	180
3*	10	0	0

*ventilação

3.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO PARA O PROCEDIMENTO EMPREGANDO ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO (7 mol L⁻¹)

Na Tabela 3 estão apresentando as espécies poliatômicas que interferem na medida dos isótopos selecionados para estudo neste trabalho, sendo que as interferências sublinhadas são aquelas com maior probabilidade de ocorrência. Para minimizar esses processos de interferência algumas estratégias podem ser empregadas, como por exemplo seleção de outro isótopo, utilização de plasma frio, célula de reação e colisão e, ainda, CRI ^[48]. Essa última estratégia consiste na inserção de gás hidrogênio e/ou hélio diretamente nos cones da interface (cone de amostragem e skimmer) e foi empregada neste trabalho.

TABELA 3 – Possíveis interferências na determinação de Cr, As, Se, Cd e Pb

^{52}Cr	$\underline{^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+}; ^{36}\text{Ar}^{16}\text{C}^+; ^{37}\text{Ar}^{17}\text{O}^+$
^{53}Cr	$^{40}\text{Ar}^{13}\text{C}^+; ^{36}\text{Ar}^{17}\text{O}^+; ^{35}\text{Cl}^{18}\text{O}^+$
^{75}As	$\underline{^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+}; ^{36}\text{Ar}^{39}\text{K}^+; ^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}_2^+$
^{78}Se	$^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+; ^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ca}^+; ^{39}\text{Ar}_2^+$
^{80}Se	$\underline{^{40}\text{Ar}_2^+}; ^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ca}^+$
^{82}Se	$\underline{^{40}\text{Ar}_2^1\text{H}_2^+}; ^{40}\text{Ar}^{42}\text{Ca}^+; ^{63}\text{Cu}^{17}\text{O}^+$
^{112}Cd	$\underline{^{40}\text{Ar}_2^{16}\text{O}_2^+}; ^{40}\text{Ca}_2^{16}\text{O}_2^+$
^{114}Cd	$\underline{^{98}\text{Mo}^{16}\text{O}^+}; ^{98}\text{Ru}^{16}\text{O}^+$
^{206}Pb	$^{190}\text{Ir}^{16}\text{O}^+$
^{208}Pb	$^{192}\text{Pt}^{16}\text{O}^+$

Poucos trabalhos foram publicados na literatura usando a CRI. Como citado anteriormente, Pereira *et al.* avaliaram a utilização da CRI para minimizar interferências espectrais nas medidas de As e isótopos de Se, com a introdução de H₂ e He nos cones de amostragem e skimmer [52]. Em 2010, Beauchemin e Xing desenvolveram um procedimento para especiação de Cr em água potável acoplado a cromatografia de troca iônica ao ICP-MS [54]. Fialho *et al.*, em 2011, desenvolveram um método combinando o plasma frio com a interface de colisão e reação para a determinação de Cu em matrizes com elevados teores de Na e Mg [55].

3.3.1- Avaliação da exatidão do procedimento desenvolvido

Para efeito de avaliação da exatidão do procedimento desenvolvido utilizou-se o material de referência certificado de mexilhão GBW 08571 (NRCMS, Beijing, China), sendo que uma massa de 0,25 g foi submetida ao mesmo procedimento de digestão adotado para as amostras empregando 7,0 mL de HNO_3 7,0 mol L^{-1} e 3,0 mL de H_2O_2 30% (m v^{-1}). Os teores certificados e determinados para As, Cd, Se e Pb estão apresentados na Tabela 4.

No primeiro momento, realizaram-se as determinações utilizando-se a CRI com a introdução do gás hidrogênio no cone skimmer sob uma vazão de 80 mL min^{-1} conforme condições propostas por Pereira *et al.* [52]. Nessa condição foi possível obter recuperações quantitativas para As, Cd, Pb e Se como mostrado na Tabela 4. Contudo, para os isótopos de crômio, as recuperações no material de referência não foram eficientes com a utilização do gás H_2 , por isso realizou-se um estudo com a utilização do gás He sob vazões de 60 e 80 mL min^{-1} . A partir das recuperações obtidas, optou-se por trabalhar com uma vazão de 80 mL min^{-1} por apresentar uma recuperação de 115% para o isótopo $^{52}\text{Cr}^+$ e 82% para o isótopo $^{53}\text{Cr}^+$. Assim, optou-se pela utilização da CRI com a introdução de 80 mL min^{-1} do gás H_2 para a determinação de As, Cd, Pb e Se. Por outro lado, para medidas dos isótopos de Cr optou-se pela utilização da CRI com a introdução do gás He sob uma vazão de 80 mL min^{-1} .

TABELA 4 – Teores determinados dos analitos no GBW – 08571 para avaliação da exatidão

	Certificado ^a (mg kg ⁻¹)	Determinado ^b (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)
As	6,1± 1,2	6,55 ± 0,02	107
Cd	4,5± 0,6	4,14 ± 0,04	92,0
Se	3,65± 0,18	3,08 ± 0,06	84,4
Pb	1,96 ± 0,11	1,74 ± 0,04	88,8

^a(média ± incerteza expandida); ^b(média ± incerteza expandida); n = 3

Aplicando o teste-t pareado com 95% de confiança entre os resultados obtidos por ICP-MS e os teores certificados, constatou-se que não há nenhuma diferença significativa.

Os limites de detecção determinados com a utilização da CRI para As, Cr e Se foram 0,02; 0,46 e 0,09 mg kg⁻¹, respectivamente.

3.3.2- Determinação dos teores de As, Cr e Se nas amostras relacionadas ao ciclo produtivo de frango de corte

Depois de otimizadas as condições experimentais empregadas na CRI visando minimizar as interferências poliatômicas, As, Cd, Cr, Pb e Se foram determinados nas amostras relacionadas ao ciclo produtivo de frango de corte. Como os teores de Cd e Pb ficaram abaixo do limite de detecção, i.e. 0,03 e 0,3 µg L⁻¹, respectivamente, optou-se por excluir esses elementos nas próximas etapas do estudo.

Os teores determinados nas amostras de coxa, fígado, peito e quatro amostras de água proveniente do descongelamento dos frangos estão apresentados na Tabela 5.

As determinações usando ICP-MS foram feitas com emprego da CRI. Sem a utilização da CRI não foi possível determinar As e Se devido às severas interferências poliatômicas causadas principalmente por $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ e $^{40}\text{Ar}_2^+$, respectivamente, uma vez que se utilizou um plasma de argônio. Para a determinação de $^{52}\text{Cr}^+$, que sofre interferência poliatômica ($^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$), as melhores condições para correção das interferências espectrais foram obtidas empregando 80 mL min^{-1} de He, as determinações de As e Se foram realizadas usando vazões de 80 mL min^{-1} de H_2 , condição essa que reflete o compromisso com a sensibilidade.

TABELA 5 – Teores de As, Cr e Se (mg kg^{-1}) determinados nas amostras de coxa, fígado, peito e água de descongelamento de frangos comerciais com a utilização da CRI.

Amostra	$^{75}\text{As}^+$	$^{52}\text{Cr}^+$	$^{78}\text{Se}^+$
Coxa	$0,16 \pm 0,03$	$<0,46$	$0,67 \pm 0,27$
Fígado	$<0,02$	$<0,46$	$4,02 \pm 0,07$
Peito	$0,15 \pm 0,01$	$0,68 \pm 0,21$	$0,47 \pm 0,02$
Água F1	$0,24 \pm 0,05$	$5,25 \pm 1,91$	$1,25 \pm 0,35$
Água F2	$0,15 \pm 0,02$	$4,85 \pm 0,02$	$1,96 \pm 0,47$
Água F3	$0,10 \pm 0,03$	$4,22 \pm 0,12$	$0,97 \pm 0,09$
Água F4	$0,20 \pm 0,01$	$4,33 \pm 0,18$	$1,23 \pm 0,08$

(média \pm desvio padrão, n = 3)

Em 2009, Shah *et al.* determinaram As em amostras de tecido de frangos de corte provenientes do Paquistão por espectrometria de absorção atômica por geração de hidreto e por forno de grafite (HG-GF AAS). Os teores nas amostras variaram de $1,70$ a $7,17\text{ mg kg}^{-1}$. Os autores ressaltaram

que esses teores encontrados variam de país para país, devido ao tipo de alimento, tecnologias e condições de processamento ^[56].

Bohrer *et al.* determinaram Se em amostras de carne de frango por HGAAS e GFAAS. Os autores empregaram quatro procedimentos de preparo de amostras e os teores de selênio variaram de 0,11 a 0,37 mg kg⁻¹ nas amostras ^[57].

Posteriormente, determinaram-se os teores de As, Cr e Se nas amostras de ração de frango e os resultados podem ser visualizados na Tabela 6.

TABELA 6 – Teores de As, Cr e Se (mg kg^{-1}) determinados nas amostras de ração e amostras de frangos com a utilização da CRI (H_2 80 mL min^{-1} (As, Se) e He 80 mL min^{-1} (Cr)).

Amostra	$^{75}\text{As}^+$	$^{52}\text{Cr}^+$	$^{78}\text{Se}^+$
Ração 1A	$0,37 \pm 0,03$	$0,60 \pm 0,01$	$0,35 \pm 0,02$
Ração 1B	$0,39 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,08$	$0,15 \pm 0,01$
Ração 15A	$0,10 \pm 0,01$	$1,07 \pm 0,01$	$0,37 \pm 0,01$
Ração 15B	$<0,02$	$0,94 \pm 0,06$	$0,28 \pm 0,03$
Ração 30A	$0,19 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,06$	$0,44 \pm 0,08$
Ração 30B	$0,62 \pm 0,04$	$1,04 \pm 0,09$	$0,73 \pm 0,06$
Ração 45A	$0,09 \pm 0,01$	$0,57 \pm 0,04$	$0,51 \pm 0,06$
Ração 45B	$0,46 \pm 0,09$	$1,12 \pm 1,14$	$0,50 \pm 0,07$
Frango 633	$<0,02$	$0,73 \pm 0,03$	$0,83 \pm 0,07$
Frango 671	$0,28 \pm 0,02$	$1,30 \pm 0,09$	$1,27 \pm 0,09$
Frango 505	$0,64 \pm 0,04$	$1,14 \pm 0,02$	$0,71 \pm 0,03$
Frango 516	$0,42 \pm 0,03$	$1,11 \pm 0,05$	$1,07 \pm 0,04$

(media \pm desvio padrão, n = 3)

Observando os resultados da Tabela 6, pode-se inferir que esses elementos estejam sendo liberados no ambiente ou inseridos na cadeia alimentar.

A alimentação de frangos pode conter misturas de plantas e antibióticos (compostos orgânicos de As), sendo esse último usado particularmente na fase de crescimento (ração fornecida a partir do 30º dia do ciclo de crescimento) quando a legislação assim o permite, deve ser ressaltado que no Brasil o uso deste antibiótico é permitido [58]. A

concentração do composto à base de As adicionado nas rações pode variar de 22,7 até 45,4 g por tonelada, e as funções são garantir uma melhor pigmentação da carne, promover o crescimento e aumentar o peso [2].

Como os resultados para os elementos são similares neste tipo de amostras, algumas considerações devem ser feitas no que diz respeito à matéria prima utilizada, processo de fabricação empregado para obtenção destas amostras e até mesmo o local onde são armazenadas e transportadas.

A cama de frango é composta por resíduos das múltiplas rações que foram adicionadas ao longo do ciclo de crescimento e também de excrementos. Essa composição complexa explica as variações encontradas e alguma tendência de acúmulo dos elementos.

Os teores de As, Cr e Se determinados nas amostras de cama de frango estão apresentados na Tabela 7 com a utilização da CRI.

TABELA 7 – Teores de As, Cr e Se (mg kg^{-1}) determinados nas amostras de cama de frango do 1º ao 45º dias do ciclo de crescimento com a utilização da CRI.

Amostra	$^{75}\text{As}^+$	$^{52}\text{Cr}^+$	$^{78}\text{Se}^+$
Cama de frango 1A	0,05 ± 0,01	3,00 ± 0,21	1,39 ± 0,56
Cama de frango 1B	1,96 ± 0,16	2,55 ± 0,37	1,18 ± 0,44
Cama de frango 15A	0,35 ± 0,14	3,75 ± 0,36	1,43 ± 0,53
Cama de frango 15B	0,26 ± 0,05	4,26 ± 0,78	1,76 ± 0,17
Cama de frango 30A	2,30 ± 0,45	4,42 ± 0,86	2,15 ± 0,53
Cama de frango 30B	2,09 ± 0,19	4,99 ± 0,48	1,82 ± 0,63
Cama de frango 45A	3,25 ± 0,43	7,82 ± 0,32	1,94 ± 0,49
Cama de frango 45B	4,66 ± 0,43	4,10 ± 0,23	2,21 ± 0,60

(média ± desvio padrão, n = 3)

Deve-se ressaltado que a cama de frango no início do ciclo é composta basicamente de capim e serragem, e na literatura consta que o CCA (do inglês *Chromated Copper Arsenato*), que é composto basicamente de óxidos de As, Cr e Cu, é muito utilizado para a conservação de madeira ^[59].

A cama de frango é empregada como adubo agrícola em determinadas regiões, porém devido à decomposição microbiana do ácido úrico eliminado pelas aves ocorre a formação da amônia. Uma das estratégias para reduzir a volatilidade da amônia e amenizar alguns problemas decorrentes como doenças respiratórias tanto nas aves como nos seres humanos é o emprego de aditivos, que também ocasionam a diminuição do teor de nitrogênio na cama o que acaba diminuindo seu valor fertilizante ^[60]. Outro problema relacionado com a utilização da cama de frango na alimentação bovina, é que alguns casos relatam que houve a perda significativa da produção devido à infestação causada pela “mosca estábulo”, que ao picar o animal pode causar irritação e estresse reduzindo a produção de leite e carne ^[61].

Outra forma de contaminação poderia decorrer dos excrementos dos frangos na cama de frango. Esses excrementos podem estar contaminados com compostos contendo As usados na alimentação animal e, conseqüentemente, podem contaminar o solo, águas subterrâneas, materiais particulados no ar e até mesmo entrar na cadeia alimentar. O roxarsone não é considerado tóxico, porém sob condições anaeróbicas ocorre a transformação em formas tóxicas de arsênio conforme foi comprovado em estudo laboratorial. No experimento efetuado constatou-se que, em menos de 10 dias, um micro-organismo do gênero *Clostridium* é capaz de converter o roxarsone em arsenato, podendo esse ser facilmente lixiviado para águas subterrâneas ^[2].

Na literatura consta que, a farinha de carne é resultante do processamento de resíduos não utilizados para consumo, tais como resíduos de carne, vísceras, órgãos, ossos etc. É considerado um suprimento alimentar rico em nutrientes, e na sua constituição constam também sais minerais, vitaminas do complexo B e proteínas de alto valor biológico. A farinha de carne é considerada um ingrediente nutricional primordial na elaboração de ração para animais domésticos, movimentando atualmente um crescente mercado ^[62].

Os teores determinados nas amostras de farinha de vísceras e óleo de vísceras estão apresentados na Tabela 8.

TABELA 8 – Teores de As, Cr e Se (mg kg^{-1}) determinados nas amostras de farinha de vísceras e óleo de vísceras com a utilização da CRI.

Amostra	$^{75}\text{As}^+$	$^{52}\text{Cr}^+$	$^{78}\text{Se}^+$
Farinha de Víscera 1	<0,02	1,81± 0,25	1,72 ± 0,17
Farinha de Víscera 2	<0,02	2,51 ± 0,44	2,04 ± 0,51
Farinha de Víscera 3	<0,02	1,97 ± 0,07	2,55 ± 0,30
Farinha de Víscera 4	<0,02	1,57 ± 0,24	1,55 ± 0,18
Farinha de Víscera 5	<0,02	1,58 ± 0,38	1,39 ± 0,11
Óleo de Víscera	<0,02	1,19 ± 0,13	0,71 ± 0,09

(média ± desvio padrão, n = 3)

3.3.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO PARA O PROCEDIMENTO EMPREGANDO ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO (2 mol L⁻¹)

Seguindo a mesma otimização das condições experimentais empregadas na CRI conforme resultados anteriormente apresentados, As, Cr e Se foram determinados nas amostras de ração de frango.

Os limites de detecção encontrados para As, Cr e Se foram 0,03; 1,03 e 0,13 mg kg⁻¹, respectivamente.

Os teores determinados nas amostras de ração de frango estão apresentados na Tabela 9.

TABELA 9 – Teores de As, Cr e Se (mg kg⁻¹) determinados nas amostras de ração de frango com a utilização da CRI.

Amostra	⁷⁵ As ⁺	⁵² Cr ⁺	⁷⁸ Se ⁺
Ração 1B	0,34 ± 0,04	0,98 ± 0,13	0,19 ± 0,01
Ração 15B	<0,03	0,96 ± 0,11	0,29 ± 0,03
Ração 30B	0,68 ± 0,03	1,56 ± 0,18	0,78 ± 0,04
Ração 45B	0,48 ± 0,01	1,19 ± 0,22	0,45 ± 0,09

(media ± desvio padrão, n = 3)

Comparando os resultados determinados com o emprego da CRI na Tabela 9 com os resultados apresentados na Tabela 6, podemos verificar uma boa concordância entre os resultados. Aplicando o teste t com 95% de confiança, os teores determinados não apresentam nenhuma diferença significativa, podendo-se concluir que ambos procedimentos de digestão foram eficientes para este tipo de amostra.

3.4 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA AVALIAÇÃO DA DIGESTÃO USANDO PRESSURIZAÇÃO COM OXIGÊNIO

Esta parte do estudo foi conduzida junto ao grupo de pesquisa do Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria.

3.4.1 – Equipamentos e Acessórios

- Liofilizador, modelo E-C Micrômiodulyo (Holbrook, EUA);
- Moinho criogênico MARCONI modelo MA775 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil);
- Balança analítica Shimadzu modelo AY220 (Kyoto, Japão);
- Forno com radiação micro-ondas Multiwave (Anton Paar, Áustria), equipados com frascos de quartzo ($P_{\text{máx}}$ 80 bar, $T_{\text{máx}}$ 280 °C e V_{interno} 80 mL);
- Espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com vista axial Spectro Analytical Instruments (modelo Ciros CCD, Kleve, Alemanha);
- Espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado PerkinElmer SCIEX (modelo ELAN[®] DRC II, Thornhill, Canadá).

3.4.2 – Soluções e Reagentes

Tal como descrito na Seção 3.2.2, acrescentando apenas os reagentes que foram empregados para a determinação do teor de carbono residual no digerido final: ácido cítrico (Merck) para o preparo das soluções analíticas de calibração de carbono e uma solução de ítrio ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$, SepxCertPrep, Metuchen, NJ, EUA) que foi utilizado como padrão interno.

3.4.3 – Amostras

As amostras utilizadas neste trabalho foram obtidas em uma granja localizada na região central do estado de São Paulo e pertencentes aos 1º, 15º, 30º e 45º dias do ciclo da cadeia produtiva do frango de corte: rações 1A, 15A, 30A e 45A, que foram previamente liofilizadas e moídas. Para verificar a exatidão do procedimento foi analisado o material de referência certificado cação (Dorm-2, NRCC, National Research Council of Canada, Ottawa, Canadá).

3.4.4 – Procedimento

O procedimento empregado no preparo de amostras para determinação dos teores totais dos constituintes inorgânicos com emprego da pressurização consistia em promover a digestão ácida assistida por radiação micro-ondas com emprego de solução de ácido nítrico diluído aliado à pressurização com oxigênio dos frascos reacionais, conforme o programa apresentado na Tabela 10, utilizando 4 frascos de quartzo e empregando $8,0 \text{ mL}$ de HNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ e pressão de 5 bar para uma

massa de amostra de aproximadamente 0,5 mg. Em seguida, para fins de comparação, realizou-se outro experimento empregando 6,0 mL de HNO₃ 2,0 mol L⁻¹ e 2,0 mL de H₂O₂ 30% m m⁻¹ e também 0,5 g de amostra. Assim, em todos os experimentos foi utilizado 6,0 mL que é volume mínimo requerido pelos frascos que são empregados na digestão assistida por radiação micro-ondas. Os digeridos foram diluídos para um volume final de 25,0 mL com água desionizada e, em seguida, foi realizada a determinação de carbono residual por ICP OES conforme os parâmetros mostrados na Tabela 11 e a determinação de As e Se por ICP-MS conforme os parâmetros mostrados na Tabela 12.

A determinação do teor de carbono em solução foi realizada no intuito de verificar a eficiência da digestão. Esse procedimento consistiu na construção de uma curva analítica de calibração usando soluções contendo de 25 até 750 mg L⁻¹ de carbono, partindo da dissolução de ácido cítrico em água. Nesse experimento, ítrio (1 mg L⁻¹) foi utilizado como padrão interno em todas as amostras, brancos analíticos e soluções analíticas de calibração. Anteriormente às medidas por ICP OES, todas as soluções foram borbulhadas com Ar por 3 min para que ocorresse a eliminação de todo o CO₂ presente.

TABELA 10 – Programa de aquecimento do forno com radiação micro-ondas empregado na pressurização com oxigênio

Etapa	Tempo (min)	Potência (W)	Temperatura (°C)
1	5	1000	250
2	10	1000	250
3*	20	0	0

*ventilação

TABELA 11 – Parâmetros operacionais adotados para o ICP OES com configuração axial para determinação de C

Gerador de rádiofrequência (MHz)	40
Potência aplicada (kW)	1,6
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	14
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,0
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	1,0
Câmara de nebulização	Tipo Scott
Nebulizador	Fluxo cruzado
Linhas de emissão (nm)	C 193,091 Y 371,030

TABELA 12 – Parâmetros operacionais adotados para o ICP – MS (Elan[®]-PerkinElmer)

Gerador de rádio-frequência (MHz)	27
Potência aplicada (kW)	1,3
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,2
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	1,16
Câmara de nebulização	Ciclônica
Nebulizador	Concêntrico
Temperatura da câmara de nebulização (°C)	3
Cone de amostragem e skimmer	Pt
Pontos por picos	3
Amostras / replicatas	5
Dwell time (ms)	10
Isótopos monitorados	⁷⁵ As ⁺ ; ⁵² Cr ⁺ ; ⁵³ Cr ⁺ ; ⁷⁸ Se ⁺ ; ⁸⁰ Se ⁺ ; ¹¹² Cd ⁺ ; ¹¹⁴ Cd ⁺ ; ²⁰⁸ Pb ⁺

3.5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO EMPREGANDO PRESSURIZAÇÃO COM OXIGÊNIO

3.5.1- Avaliação da eficiência de digestão

Visando avaliar a eficiência da digestão com a pressurização com oxigênio nos frascos reacionais e com a adição de H₂O₂, determinou-se a concentração de carbono residual nos digeridos (Figura 1).

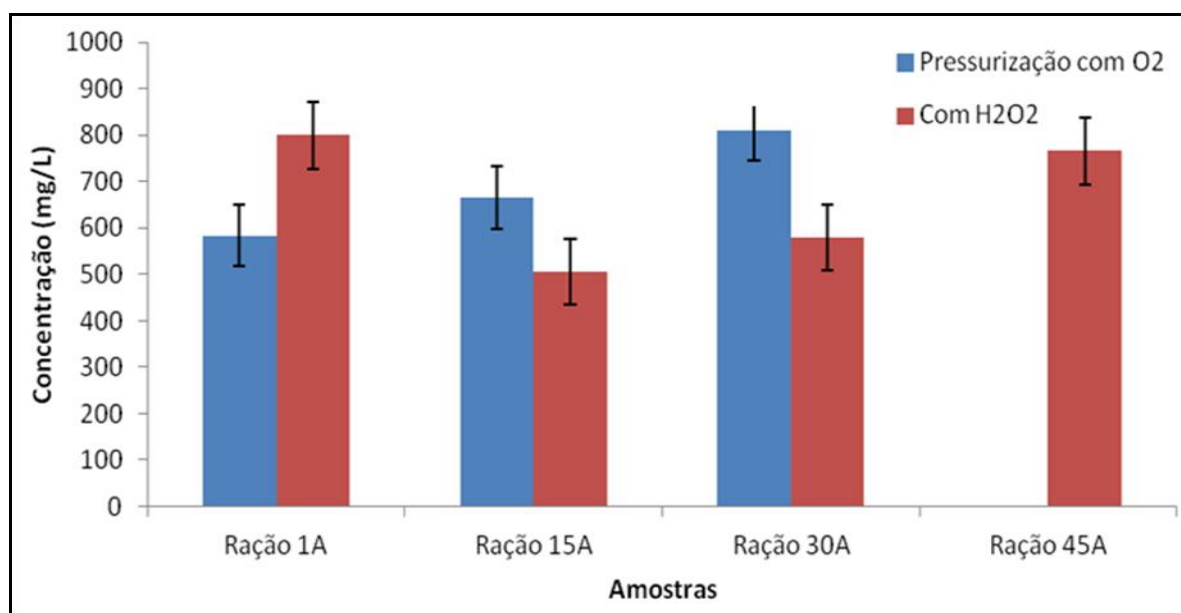


FIGURA 1. Teores de carbono residual nos digeridos empregando a pressurização e/ou adição de peróxido de hidrogênio (H₂O₂).

Observando a Figura 1, podemos verificar que os teores de carbono residual nas amostras estudadas no trabalho, tanto empregando a digestão com pressurização com oxigênio nos frascos reacionais quanto empregando o peróxido de hidrogênio, variaram de 500 a 800 mg L⁻¹ comprovando assim a eficiência da digestão. Esses valores são compatíveis com o estudo

realizado por Bizzi *et al.* que recomendou um limite máximo de 2000 mg L⁻¹ de carbono em solução, quando as determinações de Al, Ca, K, Fe, Mg e Na foram conduzidas usando ICP-MS e ICP OES [46]. Contudo, deve-se ressaltar que os efeitos causados pela presença de carbono dependem do analito e da respectiva linha de emissão ou isótopo selecionado para medidas em ICP OES ou ICP-MS, respectivamente, sendo que frequentemente avaliam-se digeridos contendo RCCs tão elevados quanto 10%.

3.5.2- Avaliação da exatidão do procedimento desenvolvido

Para efeito de avaliação da exatidão do procedimento desenvolvido utilizou-se o material de referência certificado DORM-2, sendo que uma massa de 0,5 g foi submetida ao mesmo procedimento de digestão adotado para as amostras com emprego da pressurização e sem o emprego da pressurização. Os teores determinados e certificados de As e Se estão apresentados na Tabela 13.

TABELA 13 – Teores determinados e certificados de As e Se no DORM-2 para avaliação da exatidão do método proposto

	Certificado ^a (mg kg ⁻¹)	Com pressurização ^a (mg kg ⁻¹)	Com emprego H ₂ O ₂ ^a (mg kg ⁻¹)
As	18,0 ± 1,1	18,0 ± 1,6	17,9 ± 1,4
Se	1,4 ± 0,09	1,38 ± 0,12	1,34 ± 0,12

^a(média ± incerteza expandida) n = 3

A quantificação no material de referência foi realizada com o emprego da pressurização e com adição da mistura ácida HNO₃ 2 mol L⁻¹

H₂O₂, com recuperações de 99% para As e 98% para Se, 99% para As e 96% para Se, respectivamente.

Os limites de detecção para As e Se foram de 0,08 e 0,15 mg kg⁻¹ com o emprego da pressurização com O₂, e de 0,09 e 0,19 mg kg⁻¹ sem o emprego da pressurização, respectivamente.

3.5.3- Determinação dos teores de As, Cr, Se, Cd e Pb nas amostras relacionadas ao ciclo produtivo de frango de corte com emprego da pressurização com O₂

Nesta parte do trabalho vale ressaltar que se optou pela determinação dos constituintes por ICP-MS com as condições descritas na Tabela 5 (página 38), a fim de avaliar o emprego da pressurização no preparo de amostra.

Nas Tabelas 14 e 15 estão apresentados os valores determinados com e sem o emprego da pressurização com O₂ para As e Se, respectivamente. No caso do experimento sem a pressurização com O₂, foi adicionado H₂O₂ conforme descrito na Seção 3.3.4.

TABELA 14 – Teores de As determinados nas amostras de ração de frango por ICP-MS empregando pressurização com oxigênio e adição de H₂O₂

Amostra	Com pressurização com O₂	Com emprego de H₂O₂
	(mg kg⁻¹)	(mg kg⁻¹)
Ração de frango 1A	0,25 ± 0,07	0,28 ± 0,01
Ração de frango 15A	<0,08	<0,09
Ração de frango 30A	0,17 ± 0,02	0,22 ± 0,02
Ração de frango 45A	<0,08	<0,09

(media ± desvio padrão, n = 3)

TABELA 15 – Teores de Se determinados nas amostras de ração de frango por ICP-MS empregando pressurização com oxigênio e adição H₂O₂

Amostra	Com pressurização com O₂	Com emprego de H₂O₂
	(mg kg⁻¹)	(mg kg⁻¹)
Ração de frango 1A	0,35 ± 0,08	0,46 ± 0,02
Ração de frango 15A	0,38 ± 0,04	0,40 ± 0,04
Ração de frango 30A	0,41 ± 0,03	0,46 ± 0,03
Ração de frango 45A	0,48 ± 0,04	0,41 ± 0,04

(media ± desvio padrão, n = 3)

Observando-se esses resultados constata-se uma boa concordância entre os dois preparos de amostra empregados nesta etapa do trabalho, e

aplicando um *test-t* com 95% de confiança na há diferença estatística entre os resultados encontrados em ambos os preparos de amostras.

Através dos resultados obtidos, confirma-se que a disponibilidade de oxigênio é fundamental no processo de digestão empregando a pressurização dos frascos reacionais, pois promove a regeneração do ácido nítrico ^[44]. Outra vantagem é que quando trabalhamos com a pressurização dos frascos reacionais, utilizamos apenas o ácido nítrico com o reagente, visto que nesse experimento não foi necessário empregar H₂O₂ como reagente auxiliar. Por outro lado, sabe-se que a adição de H₂O₂ no preparo de amostra quando se emprega HNO₃ aumenta o poder oxidante desse ácido favorecendo a decomposição total da matéria orgânica presente na amostra.

3.6 – CONCLUSÕES PARCIAIS

Pode-se verificar que a pressurização é uma boa alternativa para o preparo de amostra atendendo aos princípios da química verde, uma vez que se trabalha com a utilização de reduzido volume de reagente e sem a adição de reagente auxiliar agressivo.

O uso do oxigênio como reagente auxiliar diminui o volume de solução de ácido nítrico diluído empregado na digestão das amostras sem afetar a eficiência da digestão.

Comparando-se os procedimentos experimentais não há uma diferença significativa nos tempos de irradiação porque ambos se situam em torno de 30 min. Quanto à massa utilizada, o experimento com pressurização de oxigênio (Multiwave) envolveu uma massa de aproximadamente 500 mg e o experimento somente com ácido nítrico diluído (Ethos) envolveu uma massa de aproximadamente 250 mg.

Por fim, tanto a utilização do peróxido de hidrogênio quanto à pressurização com oxigênio combinadas ao uso de ácido nítrico diluído são eficientes para a digestão assistida por radiação micro-ondas. No entanto, devido à praticidade de se trabalhar com peróxido de hidrogênio, essa se torna uma alternativa mais usual para a digestão das amostras, uma vez que o peróxido de oxigênio também pode ser considerado como uma fonte de oxigênio no preparo de amostras sem afetar a eficiência do processo.

4 – ESPECIAÇÃO REDOX DE CRÔMIO

4.1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A principal forma existente de crômio é o mineral cromita, que está presente em rochas, solos, água, fauna e flora. As atividades dos processos de fundição, atividade metalúrgica, indústria de corante, galvanoplastia são as principais formas de liberação desse elemento no ambiente. O crômio pode estar nas seguintes formas: crômio metálico (Cr^0), crômio trivalente (Cr(III)) e crômio hexavalente (Cr(VI)) [63-64].

As principais formas de ocorrência de crômio no ambiente são os dois estados de oxidação mais estáveis: Cr(III) e Cr(VI) . O Cr(III) é considerado um micronutriente essencial para a dieta dos seres vivos sendo inclusive empregado como suplemento alimentar. Por outro lado, Cr(VI) é tóxico e carcinogênico. A Organização Mundial de Saúde (WHO) estabelece um limite máximo de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ de Cr(VI) com base em seu caráter carcinogênico. Devido à diferença de toxicidade dessas espécies, é necessário a realização de um estudo de especiação desse elemento [65].

A diferença de toxicidade dessas espécies é atribuída às características químicas que cada espécie apresenta, bem como a mobilidade, biodisponibilidade e estabilidade da espécie no ambiente. A interconversão das espécies pode ocorrer dependendo do pH. Meio com pH ácido favorece a estabilização de Cr(III) . No entanto, em pH básico a estabilização de Cr(VI) é favorecida, facilitando assim o preparo de amostra e a determinação da espécie de interesse [54,66].

Panichev *et al.*, em 2005, estudaram a especiação de Cr(VI) em amostras de plantas empregando a lixiviação em carbonato de sódio para o

preparo de amostras. Esse preparo consistiu na utilização de 0,25 g de amostra, adição de 25,0 mL de Na_2CO_3 0,1 mol L^{-1} e aquecimento por 10 min. Depois de resfriada à temperatura ambiente, a solução foi transferida para um frasco e o volume ajustado para 25,0 mL com água desionizada. Filtrou-se uma alíquota de 1 mL com uma membrana 0,45 μm antes das medidas por GF AAS. Os autores estudaram também o efeito do tempo de aquecimento empregado no preparo de amostra e constataram que o tempo de 10 min foi suficiente para completa lixiviação. Assim, concluíram que esse método de preparo de amostra é eficaz, possibilita a determinação de baixas concentrações de Cr(VI) e por até um período de 6 meses não há interconversão entre espécies ^[67].

Em 2008, Matos *et al.* propuseram um procedimento para especificação de Cr(VI) em solos contaminados com solução sulfocrômica. Os autores avaliaram a estabilidade de Cr(VI) na presença e na ausência de Cr(III) em meio à solução extratora composta por carbonato de sódio, porém nenhuma transformação redox foi observada. Após esse estudo, foi realizado o procedimento de extração que consistia na utilização de 0,25 mg de amostra, adição de 25,0 mL de Na_2CO_3 0,1 mol L^{-1} e, em seguida, a mistura foi mantida sob ebulição em um banho de areia por 10 min. Após a extração, a solução foi resfriada à temperatura ambiente e transferida para um tubo graduado. A solução foi centrifugada por 10 min a 4000 rpm e um volume de 10,0 mL do sobrenadante foi coletado. O pH foi ajustado para 1 com a utilização de H_2SO_4 5 mol L^{-1} e 1 mL da solução de difenilcarbazida foi acrescentado. A absorbância da solução resultante foi medida em um espectrofotômetro usando o comprimento de onda de 545 nm. Os autores relataram que a presença de matéria orgânica no solo pode ter promovido a redução de Cr(VI) a Cr(III) e que esse processo pode ter sido facilitado devido ao meio ácido da solução sulfocrômica ^[68].

Matos e Nóbrega também estudaram a especiação de Cr em cimentos e derivados de cimentos brasileiros (rejunte, ceramicola e cimentcola) empregando o mesmo preparo de amostras acima descrito para as amostras de solo contaminado com solução sulfocrômica. Os autores observaram que em algumas amostras de cimento e de derivados os teores determinados foram superiores ao limite estabelecido pela União Europeia que é de 2 mg kg^{-1} e ressaltaram a necessidade da elaboração de materiais de referência de diversas matrizes sólidas para estudo de especiação desse elemento [69].

Soares *et al.* propuseram um procedimento de extração de Cr(VI) em amostras de pão. O procedimento consistiu na utilização de 1,0 g de amostra e 9,0 mL de NaOH $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e, em seguida, as amostras foram agitadas em agitador horizontal por 17 h à temperatura ambiente. Posteriormente, adicionou-se 1,0 mL de NH_4NO_3 1 mol L^{-1} seguida de breve agitação e as misturas foram centrifugadas por 30 min a 12500 rpm. Crômio(VI) foi determinado no sobrenadante por GF AAS [70].

Beauchemin e Xing desenvolveram um procedimento para especiação de Cr em amostras de água potável acoplado cromatografia de troca iônica e ICP-MS. Os autores empregaram a CRI com os gases H_2 e He para minimizar as interferências poliatômicas ($^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$) provenientes de carbono e cloro ($^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^{1}\text{H}^+$ e $^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$). A otimização da vazão de gás utilizado na CRI foi feita monitorando-se a relação entre o sinal do interferente e de um elemento com razão massa/carga próxima ao Cr buscando reduzir as interferências poliatômicas sem perda de sensibilidade. Manganês (m/z 55) foi empregado para essa otimização. Foi realizado um monitoramento contínuo das intensidades de sinal nas razões m/z 52 e 55, variando a vazão de gás da CRI. Ambos os gases reduziram o sinal de

fundo, entretanto H_2 foi mais eficiente na eliminação das espécies interferentes [54].

Em 2010, Elci *et al.* propuseram um procedimento para determinação de Cr(VI) em amostras de plantas, solos e sedimentos por lixiviação empregando o Na_2CO_3 . Esse procedimento consistia na utilização de aproximadamente 0,250 g de amostra, 25,0 mL de Na_2CO_3 0,1 mol L^{-1} e aquecimento por 10 min. Em seguida, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente, filtrada e diluída com água desionizada até 25,0 mL. Crômio(VI) foi determinado por GF AAS. Os autores estudaram ainda o efeito da concentração de Na_2CO_3 com relação ao sinal de Cr(VI) e observaram que até 0,1 mol L^{-1} não ocorreu nenhum tipo de interferência [71].

Pires *et al.* propuseram um sistema em fluxo multicomutado com emprego de LED's para a determinação espectrofotométrica de Cr(VI) em amostras de água que consistiu na reação do Cr(VI) com 1,5 difenilcarbazida. O produto dessa reação apresentou coloração violeta com máximo de absorção em 548 nm. O Cr(III) foi oxidado a Cr(VI) e sua determinação se deu pela diferença de concentrações de Cr total e da concentração determinada de Cr(VI). Os limites de detecção foram 2,05 e 1,0 $\mu g L^{-1}$ para Cr(III) e Cr(VI), respectivamente [72].

Além desses procedimentos, existem outros que podem ser empregados para a determinação das espécies de Cr, tais como técnicas de filtração com membranas, métodos cromatográficos, métodos eletroquímicos, técnicas de coprecipitação, separações utilizando agentes complexantes e extração com solventes e análise em fluxo [73].

A partir do exposto acima, uma alternativa para se verificar a eficiência de extração é a análise de um material de referência certificado,

porém considerando as amostras empregadas neste trabalho, não existe um material de referência certificado que se aproxime da matriz empregada.

Com isso o objetivo deste trabalho foi realizar a especificação de crômio em amostras relacionadas de cama de frango pertencente ao ciclo produtivo do frango de corte empregando preparo de amostra em meio alcalino. A escolha desse tipo de amostra para a análise de especificação se deve ao fato de que, apesar de proibido pela legislação, a cama de frango é usada por alguns pequenos produtores na alimentação de bovinos ou até mesmo como adubos, sendo assim uma fonte de contaminação ambiental.

4.2 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.2.1 – Equipamentos e Acessórios

- Liofilizador, modelo E-C Micrômiodulyo (Holdbrook, EUA);
- Moinho criogênico MARCONI modelo MA775 (Marconi, Piracicaba, SP);
- Balança analítica OHAUS, modelo AS200 (Ohaus Corporation, Florham Park, NJ, EUA);
- Chapa aquecedora, Nova Ética Modelo: 208-2D (Nova Ética, São Paulo, Brasil);
- Centrífuga Sorvall, modelo SuperT21 (Newton, EUA);
- Espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite – GTA 100 SpectrAA – 800 (Varian, Mulgrave, Austrália), equipado com corretor com base no efeito Zeeman transversal e aquecimento longitudinal;

- Espectrômetro de massas acoplado ao plasma induzido (Varian 820-MS) equipado com CRI.

4.2.2 – Soluções e Reagentes

Todas as soluções foram preparadas empregando reagentes de alta pureza analítica e água destilada-desionizada em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Para o preparo de amostras empregando radiação micro-ondas foram utilizados HNO₃ (Merck, Darmstadt, Alemanha) purificado no sistema de sub-destilação (SubPur, Milestone, Sorisole, Itália), H₂O₂ (Merck) e água destilada-desionizada purificada em sistema Milli-Q[®] (resistividade elétrica superior a 18 MΩ cm).

Soluções estoques de cromo (Tec-Lab, Hexis, São Paulo, SP, Brasil) foram utilizadas. Argônio líquido e nitrogênio foram fornecidos pela White Martins (Sertãozinho, SP, Brasil). Para o preparo de amostras empregando extração foi utilizada solução de CFA-C (Spectrasol, Warwick, NY, EUA). Todas as soluções e amostras foram preparadas e armazenadas em frascos de polipropileno descontaminados.

4.2.3 – Amostras

As amostras de cama de frango foram obtidas em uma granja localizada na região central do estado de São Paulo e relacionadas a diferentes estágios do ciclo da cadeia produtiva do frango de corte. Três tipos de cama de frango foram analisados. Para verificar a exatidão do procedimento para a determinação do teor total usou-se o material de referência certificado de mexilhão GBW 08571 (National Research Center for Standard Materials, Beijing, China).

4.2.4 - Descontaminação dos materiais

Todo material utilizado, tais como vidrarias, ponteiros de micropipetas e tubos de polipropileno foram lavados com água de torneira, água destilada e depois foram imersos por 24 h em um banho com solução 10% v/v de HNO₃. Posteriormente, esses materiais foram lavados com água desionizada (Milli-Q) e secos em capela de fluxo laminar.

4.2.5 – Procedimento para Especificação Redox de Cr

Para a análise de especificação empregou-se uma adaptação do procedimento proposta por Matos *et al.* ^[69], ou seja, no lugar de solução de carbonato de sódio empregou-se como solução extratora CFA-C e o aquecimento foi promovido em uma chapa. Assim o procedimento empregado consistia na utilização de 0,25 g de amostra, adição de 25,0 mL de CFA-C (10% v v⁻¹), aquecimento em uma chapa sob ebulição por 10 min, seguido de resfriamento à temperatura ambiente, transferência para um tubo graduado de 50,0 mL e centrifugação por 30 min a 3500 rpm. O sobrenadante foi analisado empregando um ICP-MS operado nas condições descritas na Tabela 1 (página 22) e por GFAAS conforme as condições descritas nas Tabelas 16 e 17.

TABELA 16 – Parâmetros operacionais adotados para no GF AAS

Corrente da lâmpada (mA)	10
Resolução espectral (nm)	0,2
Comprimento de onda (nm)	357,9
Volume de amostra (μL)	25

TABELA 17 – Programa de aquecimento empregado no GF AAS

Etapa	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tempo (s) (rampa; patamar)	Vazão de Ar (L min^{-1})
Secagem	95	5; 40	3
Secagem	120	10; 5	3
Pirólise	1400	5; 2	3
Atomização	2600	1; 2	0
Limpeza	2800	2; 1	3

4.2.6 – Procedimento para determinação de Cr total

Para o procedimento de determinação de Cr total empregou-se a digestão com ácido nítrico diluído, pesando-se 0,25 g de amostras e adicionou-se 5,0 mL de HNO_3 7 mol L^{-1} e 3,0 mL H_2O_2 (30% m v^{-1}). As amostras foram submetidas à radiação micro-ondas conforme o programa descrito na Tabela 18. Posteriormente à etapa de digestão, foram realizadas as determinações de Cr total nas amostras e o teor de Cr(III) foi encontrado

subtraindo o teor determinado de Cr(VI) do teor de Cr total. Deve ser ressaltado que as amostras empregadas neste trabalho não foram as mesmas que aquelas analisadas no Capítulo 3.

TABELA 18 – Programa de aquecimento empregado no forno com cavidade para digestão das amostras.

Etapa	Tempo (min)	Potência (W)	Temperatura (°C)
1	10	1000	180
2	10	1000	180
3	15	0	0

4.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 – Efeito do CFA-C sobre a ocorrência de interferência espectral

Foi avaliado o efeito das interferências poliatômicas que poderiam ocorrer com a utilização do CFA-C no procedimento de extração. Assim, soluções contendo concentrações crescentes de CFA-C foram preparadas e, em seguida, foram monitorados as intensidades de sinal para os diferentes isótopos de crômio, $^{50}\text{Cr}^+$, $^{52}\text{Cr}^+$, $^{53}\text{Cr}^+$ e $^{54}\text{Cr}^+$ (Figura 2). Na Figura 3 pode ser visualizado o efeito da adição dos gases H_2 e He para minimização de interferências no sinal do isótopo $^{53}\text{Cr}^+$.

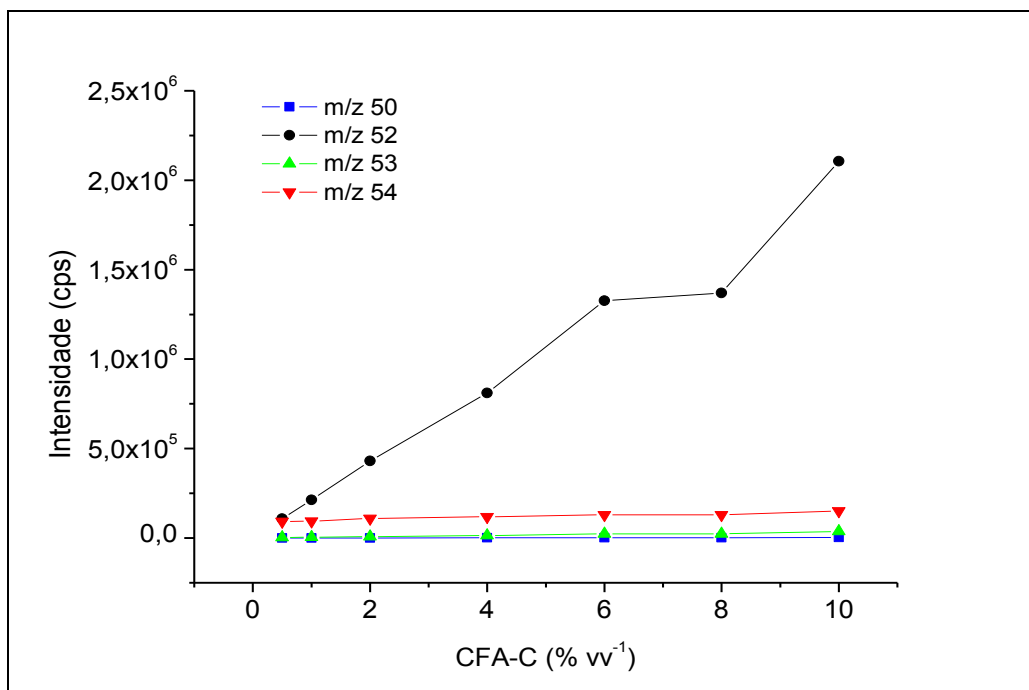


FIGURA 2 - Efeito da concentração de CFA-C na ocorrência de interferência poliatômica sobre os isótopos de crômio ($50 \mu\text{g L}^{-1}$).

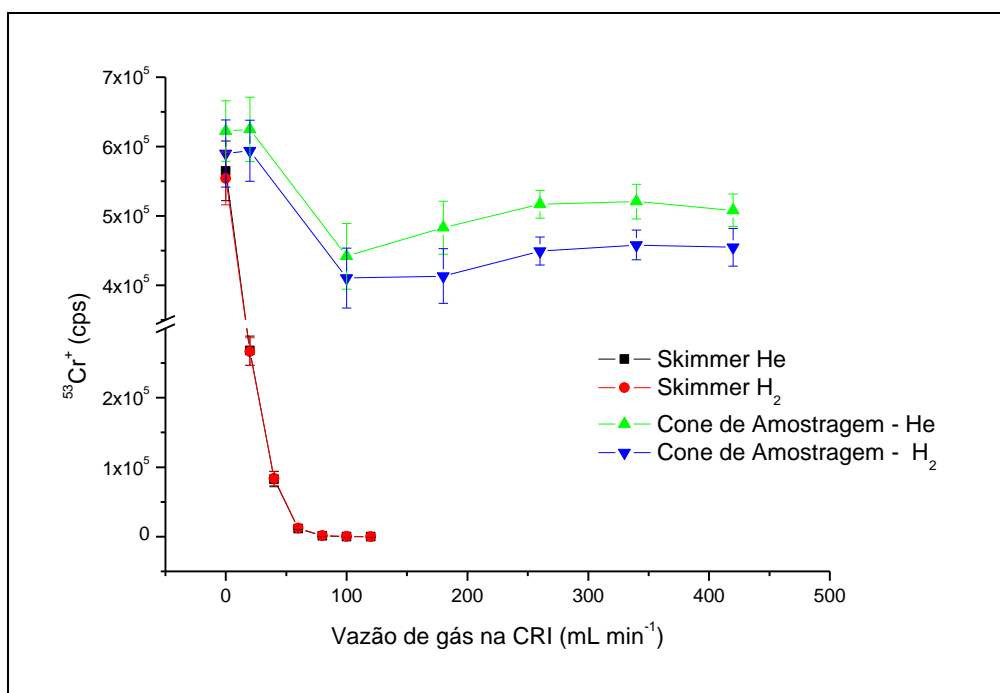


FIGURA 3 - Efeito da adição de gases nos cones de amostragem e skimmer sobre a minimização de interferências no isótopo $^{53}\text{Cr}^+$ em meio CFA-C ($1,0 \text{ \% v v}^{-1}$).

Pode-se observar na Figura 2, um aumento da intensidade de sinal do isótopo mais abundante do Cr na m/z 52 uma vez que a medida desse isótopo é afetada pelo íon poliatômico $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$. Assim, foi necessária a otimização da CRI visando destruir esse poliatômico. Optou-se por trabalhar com a solução de CFA-C 10% v v⁻¹ porque de acordo com Krushevskaja *et al.* concentrações mais elevadas de CFA-C, tais como 12 e 20% v v⁻¹, podem ocasionar deposição de compostos de carbono no cone de amostragem e até mesmo provocar um aumento das interferências poliatômicas geradas pelos íons carbono e nitrogênio [74].

Na Figura 3, pode ser observado a eficiência do cone skimmer com ambos os gases para minimização de possíveis interferências no sinal de isótopo $^{53}\text{Cr}^+$.

4.3.2 – Determinação do teor de crômio total

A avaliação da exatidão do método proposto para determinação de Cr total foi feita analisando-se o material de referência certificado (GBW – 08571) contendo $0,57 \pm 0,08 \text{ mg kg}^{-1}$ de crômio, utilizando-se a CRI com emprego do gás He. Pode-se observar que quando se emprega o gás He sob vazão de 80 mL min^{-1} tem-se uma melhor recuperação dos teores de Cr, com 82 % para o $^{52}\text{Cr}^+$ como pode ser visto na Tabela 19.

TABELA 19 – Teores de cromo (mg kg^{-1}) determinado no material de referencia certificado (GBW – 08571)

	Cr_{total} sem CRI (mg kg^{-1})	Cr_{total} com CRI (mg kg^{-1})
	⁵² Cr	⁵² Cr
GBW	$0,80 \pm 0,05$	$0,47 \pm 0,02$

(média \pm incerteza expandida) n = 3

A determinação do teor total de cromo nas amostras digeridas foi feita empregando ICP-MS com CRI e vazão de 80 mL min^{-1} de He no cone skimmer. Os resultados podem ser vistos na Tabela 20.

TABELA 20 – Teores de cromo total determinados (mg kg^{-1}) nas amostras sem a utilização da CRI e com a utilização da CRI

Amostra	Cr_{total} sem CRI	Cr_{total} com CRI
	⁵² Cr	⁵² Cr
Cama de frango 1	$230,4 \pm 15,3$	$148,7 \pm 5,70$
Cama de frango 2	$279,5 \pm 32,1$	$171,5 \pm 23,4$
Cama de frango 3	$117,4 \pm 8,97$	$72,2 \pm 5,71$

(média \pm desvio padrão, n = 3)

Observa-se que quando não emprega a CRI, as concentrações para os isótopos de cromo são elevadas quando comparado com os teores determinados empregando a CRI. Tal como previamente comentado, quando não se faz uso da CRI ocorre a formação das interferências poliatômicas que acabam elevando o resultado do isótopo de $^{52}\text{Cr}^+$. Esse efeito é corrigido empregando-se a CRI.

4.3.3 – Determinação do teor de Cr(VI) nas amostras após extração com CFA-C

Após a extração alcalina empregando como solução extratora CFA-C 10% v v⁻¹ e a otimização das vazões dos gases da CRI com análise de material de referência certificado, foi realizada a determinação dos teores de Cr(VI) usando ICP-MS e GFAAS. Essa última técnica foi utilizada para comparação de resultados e avaliação da exatidão. Os resultados podem ser observados na Tabela 21.

TABELA 21 – Teores de Cr(VI) (mg kg⁻¹) determinados por ICP-MS com CRI e por GF AAS

Amostra	Cr(VI) com CRI	Cr(VI) por GFAAS
Cama de frango 1	10,56 ± 0,12	10,10 ± 3,17
Cama de frango 2	10,34 ± 0,22	9,61 ± 2,62
Cama de frango 3	8,09 ± 0,37	8,14 ± 1,47

(média ± desvio padrão, n = 3)

Aplicando o teste-t pareado com 95% de confiança, os resultados obtidos por ICP-MS e GF AAS não apresentam nenhuma diferença significativa. Ressaltando que ambas as técnicas podem ser empregadas para a determinação de Cr(VI) nesse tipo de amostras, no entanto deve ser ressaltado a vantagem do emprego da técnica GF AAS, no que diz respeito a frequência analítica e limites de detecção e quantificação.

Com base na literatura ^[60], pode-se concluir que somente Cr(VI) foi extraído em meio alcalino.

4.4 – CONCLUSÕES PARCIAIS

Com isso foi possível realizar a extração alcalina de Cr(VI) com CFA-C 10% v v⁻¹ nas amostras de cama de frango, no entanto estudos mais conclusivos devem ser realizados, como a extração em um material de referência que se aproxime da amostra para que se possa obter informações referente ao comportamento dessa espécie.

O procedimento desenvolvido pode ser considerado uma estratégia simples para especiação redox de crômio, uma vez que a espécie Cr(VI) é mais estável em soluções alcalinas.

Por fim, os teores de Cr(VI) determinados nas amostras de cama de frango, aproximadamente 4,6% do teor total, podem indicar uma fonte de contaminação uma vez que em alguns casos, esse tipo de amostra é utilizado como adubo ou até mesmo acrescentado em rações para nutrição de bovinos. O meio predominantemente orgânico da cama de frango favorece a redução de Cr(VI) a Cr(III).

5 – ESPECIAÇÃO DE ARSÊNIO

5.1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A existência de As na natureza se dá de diversas formas químicas, sendo essas formas orgânicas e inorgânicas, resultados da participação em processos químicos, biológicos e atividades industriais, tais como na fabricação de vidros, semi-condutores, herbicidas, inseticidas e conservantes de madeira ^[7].

A toxicidade desse elemento pode variar de acordo com o grau de metilação e se dá na seguinte ordem: ácido arsenioso (As(III)) > arsenato ou ácido arsênico (As(V)) > ácido monometilarsônico (MMA) > ácido dimetilarsínico (DMA) > arsenobetaína e arsenocolina, etc. A metilação de arsênio inorgânico no corpo é um processo de desintoxicação, que ocorre nos rins reduzindo a afinidade do composto com o tecido. Assim quando ocorre uma intoxicação de arsênio inorgânico, os metabólicos de arsênio são eliminados na urina na forma DMA e MMA ^[7,29,74].

A necessidade da análise de especiação de As está na diferença de toxicidade das formas químicas do elemento, pois as espécies inorgânicas As(III) e As(V) são mais tóxicas que as espécies orgânicas. Em estudos realizados com camundongos observou-se que a dose de letal do composto KAsO_2 para 50% da população é de 14 mg kg^{-1} , do composto $\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2$ é de 20 mg kg^{-1} , para MMA é de $700 - 800 \text{ mg kg}^{-1}$, para DMA é de $700 - 2600 \text{ mg kg}^{-1}$; por outro lado as espécies arsenobetaína e arsenocolina não apresentaram nenhum efeito tóxico para os camundongos com doses orais de 10.000 e 6.500 mg kg^{-1} , respectivamente ^[7].

Para a separação das espécies de arsênio a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), é muito empregada por possibilitar uma boa separação das espécies. Além disso, para o sucesso de uma análise uma eficiente técnica de detecção deve ser empregada, podendo ser ICP-MS e HG-AFS [75].

Gómez-Ariza *et al.* estudaram a especiação de arsênio em amostras ambientais empregando a hifenação HPLC-ICP-MS. Esses autores aplicaram um procedimento de extração empregando 2,0 g de amostra e 20,0 mL da mistura metanol:água (1:1 v v⁻¹), em seguida o extrato foi sonicado por 20 min em banho de ultrassom e, posteriormente, centrifugado em 10000 rpm por 10 min. O metanol foi removido e o extrato foi diluído com água até a obtenção de uma massa de 20,0 g. A separação das espécies foi realizada utilizando uma coluna de troca aniônica e solução 25×10^{-3} mol L⁻¹ de tampão fostato (pH 5,8) foi empregada como fase móvel sob uma vazão de 1,1 mL min⁻¹. Nessas condições, as separações das espécies de arsênio ocorreram em um tempo de 10 min e com a seguinte ordem de eluição: As(III), DMA, MMA e As(V) [76].

Em 2001, Pardo-Martínez *et al.* realizaram uma análise de especiação em comidas de bebê comparando dois procedimentos de preparo de amostras. Os autores empregaram uma coluna de troca iônica e eluição em modo gradiente usando sulfato de sódio como fase móvel. Foi observada uma eficiente separação das seguintes AsB, MMA, DMA e As(V). Para a extração das espécies foram avaliados dois procedimentos de digestão enzimática empregando tripsina ou pancreatina. A extração empregando tripsina apresentou-se mais eficiente quando comparada com a digestão total empregando radiação micro-ondas. As concentrações de arsênio determinadas nas comidas de bebê variaram de 0,25 a 4,7 $\mu\text{g g}^{-1}$,

porém a única espécie que estava presente em todas as amostras foi a AsB. Em uma única amostra foi observado um pico não que não pode ser identificado. A avaliação da exatidão do procedimento foi feita analisando-se os materiais de referência certificados músculo de cação (Dorm-2) e hepatopâncreas de lagosta (Dolt-2) ^[77].

Em 2003, Pizzaro *et al.* estudaram a estabilidade e solução extratora para especiação de As em amostras ambientais e biológicas. Avaliaram a eficiência de extração empregando água e a mistura de solventes metanol:água (1:1; 9:1 e, em seguida, 1:1; 9:1 v v⁻¹ em duas etapas consecutivas). Os autores observaram que todas as misturas foram adequadas para a extração das espécies de As em amostras de arroz, frango e peixe. Porém, a extração realizada somente com água não foi eficiente devido a ocorrência de interconversão de As(III) em As(V) nos extratos. A solução que apresentou uma melhor eficiência foi a mistura metanol:água (1:1 v v⁻¹) para todos os casos ^[78].

Coelho *et al.* determinaram as espécies de As em amostras de cerveja, suco e refrigerante empregando o acoplamento HPLC-ICP-MS. A separação das espécies ocorreu utilizando uma coluna de troca aniônica e como fase móvel foi empregado tampão fosfato (pH 8,5) sob uma vazão de 1,5 mL min⁻¹. Os limites de detecção (ng mL⁻¹) obtidos para cada espécie foram 0,2 para As(III) e As(V), 0,3 para DMA e 0,5 para MMA. Foi realizado também um estudo de adição e recuperação de 5 e 10 µg L⁻¹ para todas as espécies e as recuperações variaram de 90,8 a 116%. A avaliação da exatidão do método foi realizada pela análise de materiais de referência certificados de água (APS 1066) e sedimentos (APS 1071) ^[79].

Em 2011, Moreira *et al.* estudaram a especiação de As em amostras de vinho empregando LC-ICP-MS. As espécies foram separadas utilizando-se uma coluna de troca aniônica e como fase móvel foi

empregado o tampão fosfato (pH 6,0) sob uma vazão de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$. Soluções contendo $10 \mu\text{g L}^{-1}$ das espécies As(III), DMA, MMA ou As(V) foram empregadas no desenvolvimento do procedimento. A exatidão do procedimento foi avaliada com a realização de testes de adição e recuperação e os teores recuperados variaram de 95 a 106%. Arsênio(III) e As(V) foram detectados em todas as amostras de vinho, porém a espécie DMA foi detectada apenas nas amostras de vinho procedentes da Argentina. As concentrações das espécies variaram de $2,9$ a $10,3 \mu\text{g L}^{-1}$, $8,6$ a $17,8 \mu\text{g L}^{-1}$ e $< 0,45$ a $1,07 \mu\text{g L}^{-1}$ para As(III), As(V) e DMA, respectivamente [80].

Huang *et al.* propuseram um procedimento de extração para amostras de arroz com solução $0,28 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ sob temperatura de $90 \text{ }^\circ\text{C}$ por 90 min em bloco digestor. Os autores concluíram que para amostras de arroz um tempo de 90 min é necessário devido à ligação das espécies de arsênio com enzimas que também estão presentes em arroz [81].

Batista *et al.* estudaram a especiação de arsênio em 44 tipos diferentes de arroz provenientes do Brasil com HPLC-ICP-MS. O preparo de amostra empregado consistiu na utilização de 0,2 g de amostra e adição de 10,0 mL de HNO_3 2% v v⁻¹. A mistura foi aquecida por 85 min com temperatura inicial de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ até atingir $95 \text{ }^\circ\text{C}$, posteriormente, a temperatura foi mantida por $95 \text{ }^\circ\text{C}$ por mais 90 min. Após as amostras serem resfriadas à temperatura ambiente, essas foram filtradas utilizando um filtro de celulose de $0,20 \mu\text{m}$. Para a separação das espécies foi empregado como fase móvel um tampão fosfato $10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ 98% v v⁻¹ + metanol 2% v v⁻¹. Arsênio(III), As(V) e DMA foram as formas predominantes em todas as amostras [82].

Apesar de o acoplamento entre HPLC e ICP-MS apresentar algumas vantagens, como baixos limites de detecção, sensibilidade e possibilitar

análises multielementares, existe ainda uma grande limitação com relação à fase móvel utilizada para a separação das espécies. Isso porque as soluções tampão e os solventes orgânicos podem ocasionar variações na sensibilidade, ionização dos elementos no plasma, instabilidade do plasma e também interferências espectrais [83]. Tais interferências são geralmente causadas por íons poliatômicos que apresentam massa/carga similares aos analitos e que não podem ser resolvidos em um ICP-MS com analisador de massas quadrupolar.

Nam *et al.* avaliaram o efeito da extração empregando a mistura metanol:água sobre a determinação total de As e espécies de As em amostras marinhas. Esses autores observaram que as intensidades de sinal para arsênio aumentaram de acordo com as porcentagens de metanol empregadas na extração, atribuindo esse fato ao carbono proveniente do metanol reagir com a matriz devido a energia de ionização que é 11,26 eV [84].

No intuito de corrigir o efeitos das interferências espectrais formadas no plasma sobre a determinação dos elementos, Donati *et al.* propuseram um novo método denominado padrão de interferência [85]. Diferentemente da padronização interna convencional, em que se utiliza uma espécie com características semelhantes ao analito, o método IFS usa como padrão uma espécie com comportamento semelhante ao comportamento do interferente. A razão sinal analítico/sinal da espécie IFS é, portanto, usada na construção da curva analítica de calibração, brancos e na análise das amostras a fim de minimizar os efeitos da variação do sinal do interferente sobre a exatidão.

O objetivo desta etapa do trabalho foi empregar a radiação micro-ondas para extrair espécies de As em amostras de ração de frango e avaliar um novo padrão de interferência ($^{83}\text{Kr}^+$) presente como impureza no gás argônio para melhorar a exatidão em determinações por HLPC-ICP-MS.

5.2 – Equipamentos e Acessórios

- Liofilizador, modelo E-C Micrômiodulyo (Holkbrook, EUA);
- Moinho criogênico MARCONI modelo MA775 (Marconi, Piracicaba, SP);
- Balança analítica OHAUS, modelo AS200 (Ohaus Corporation, Florham Park, NJ, EUA);
- Forno de radiação micro-ondas ETHOS-1600 (Milestone, Sorisole, Itália);
- Espectrômetro de massa acoplado ao plasma induzido (Varian 820-MS, Mulgrave, Austrália) equipado com CRI;
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (Varian Pro Star), equipado com duas bombas de pressão e um detector UV-VIS;
- Coluna de troca aniônica (IonoSpher A 250 x 4,6 mm, Varian).

5.2.1 – Soluções e Reagentes

Todas as soluções foram preparadas empregando reagentes de alta pureza analítica e água destilada-desionizada em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Para o preparo de amostras das análises de especiação foi empregado metanol (Tedia – Grau HPLC) e HNO₃ (Merck, Darmstadt, Alemanha) purificado no sistema de sub-destilação (SubPur, Milestone) e água destilada-desionizada purificada em sistema Milli-Q[®] (resistividade elétrica superior a 18 MΩ cm).

As soluções estoque das espécies de arsênio foram obtidas através da dissolução dos respectivos sais As₂O₃ (Merck), Na₂HAsO₄·7H₂O (Carlo

Erba), $(\text{CH}_3)\text{As}(\text{ONa})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich) e $(\text{CH}_3)_2\text{AsNaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich) em água.

Como fase móvel foi empregada uma solução tampão $12,5 \text{ mmol L}^{-1}$ (pH 5,4) preparada a partir dos reagentes: fosfato monobásico de potássio KH_2PO_4 (Dinamica, São Paulo) e fosfato dibásico de potássio K_2HPO_4 (Dinamica, São Paulo).

5.2.2 – Amostras

As amostras de ração de frango utilizadas neste experimento foram obtidas em uma granja localizada na região central do estado de São Paulo. Empregou-se o material de referência certificado Dorm-2 (Dogfish Muscle - National Research Council of Canada, Ottawa, Canadá) para verificação da exatidão do procedimento desenvolvido.

5.2.3 - Descontaminação dos Materiais

Todo material utilizado como vidrarias, ponteiras de micropipetas e tubos de polipropileno foram lavados com água corrente, em seguida com água destilada e depois foram imersos por 24 h em um banho com solução $10 \% \text{ v v}^{-1}$ de HNO_3 . Posteriormente, esses materiais foram lavados com água desionizada (Milli-Q) e secos em capela de fluxo laminar.

5.2.4 – Procedimento Experimental

Com base no trabalho de Huang et al. ^[81] o procedimento de preparo de amostra consistiu em estudar diferentes tempos de extração (10; 20 e 30 min), empregando 8 mL de solução $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ HNO_3 sob temperatura de $100 \text{ }^\circ\text{C}$. A massa de amostra utilizada foi de 0,2 g e um forno de micro-ondas com cavidade foi usado para promover o aquecimento e extração.

Posteriormente à etapa de preparo de amostra, determinaram-se as espécies de As, empregando o acoplamento HPLC-ICP-MS com as condições operacionais descritas nas Tabelas 1 (página 22) e 22 para o ICP-MS para o acoplamento, respectivamente.

Realizou-se também um experimento de adição e recuperação, no qual foi adicionado 1 mg L⁻¹ das espécies As(III), DMA e As(V). As adições foram efetuadas após a etapa de extração.

TABELA 22 – Parâmetros operacionais adotados para o HPLC

Fase Móvel	Tampão fosfato pH 5,6
Concentração da fase móvel (mmol L ⁻¹)	12,5
Vazão da fase móvel (mL min ⁻¹)	1,0
Volume da alça de amostragem (μL)	50

5.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 - Obtenção dos espectros de fundo por ICP-MS para as soluções extratoras empregadas na especiação de As

A avaliação da formação de espécies poliatômicas que podem interferir na determinação de As foi realizada monitorando-se os espectros de fundo das soluções extratoras empregadas no estudo de especiação. Os espectros foram obtidos utilizando o instrumento Varian 820-MS com varredura na razão massa/carga de 0 a 100, empregando ou não a CRI, i.e. com e sem a introdução do gás H₂ através do cone skimmer da interface. A introdução do gás teve como propósito avaliar quais íons seriam reduzidos e/ou eliminados e quais novos íons poderiam ser gerados quando as soluções fossem introduzidas. Esses testes foram realizados com a utilização do gás H₂ nas vazões de 60 e 80 mL min⁻¹.

A solução empregada foi o tampão fosfato 12,5 mmol L⁻¹ (pH = 5,6) que será a fase móvel empregada nos experimentos cromatográficos. As Figuras 5 a 7 representam os espectros obtidos para solução tampão de fosfato sem e com a introdução de H₂ sob diferentes vazões no cone skimmer.

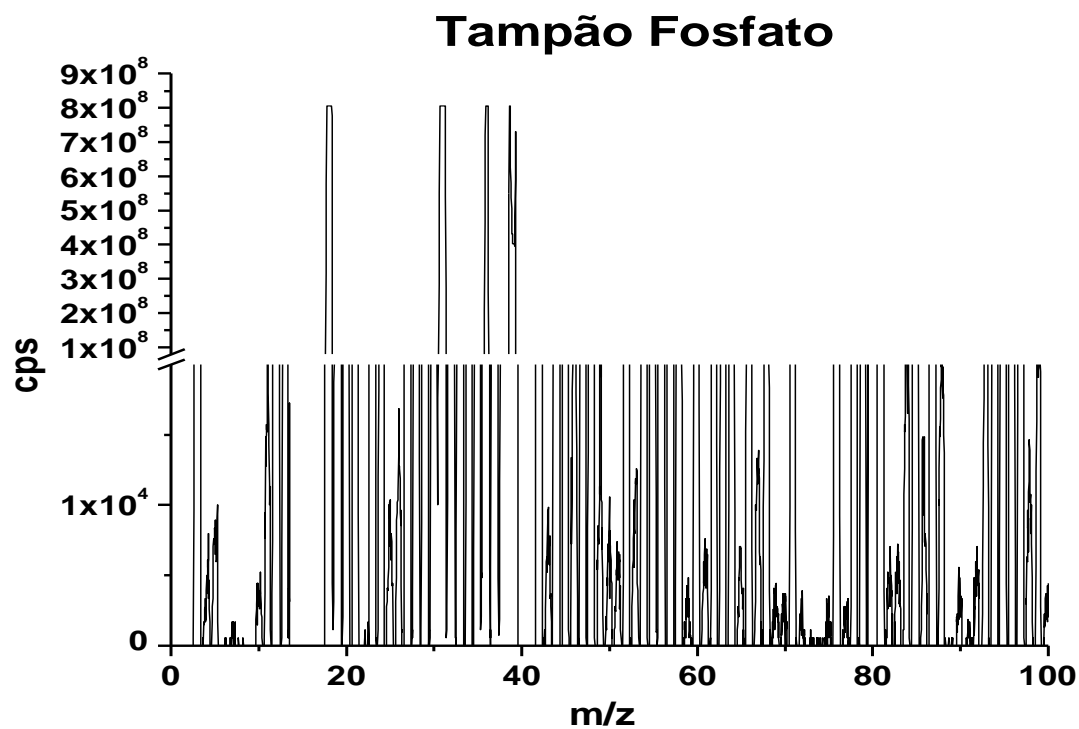


FIGURA 4. Espectro de fundo obtido por ICP-MS de uma solução tampão de fosfato $12,5 \text{ mmol L}^{-1}$ sem o emprego da CRI região de massa/carga 0 a 100.

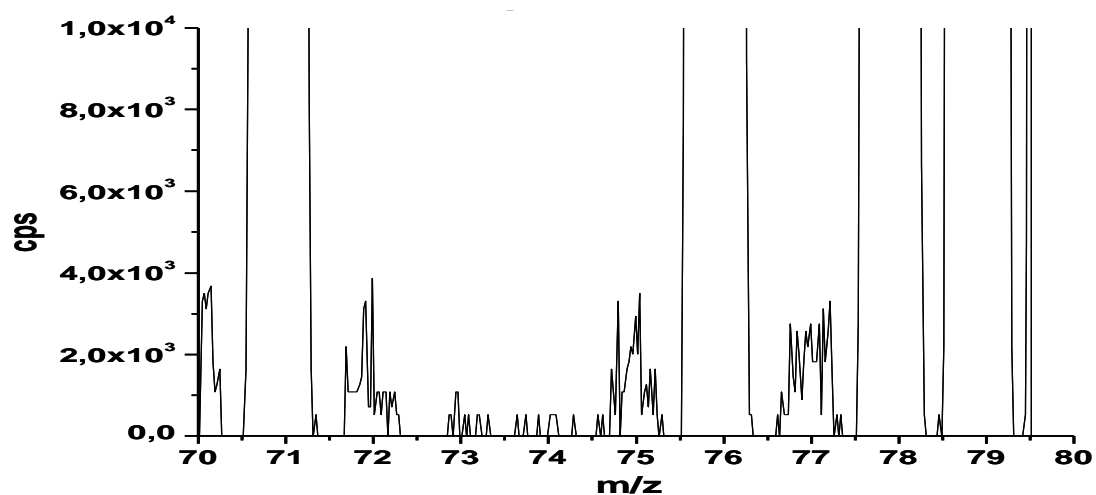


FIGURA 5. Espectro de fundo obtido por ICP-MS de uma solução tampão de fosfato $12,5 \text{ mmol L}^{-1}$ sem o emprego da CRI região de massa/carga 70 a 80.

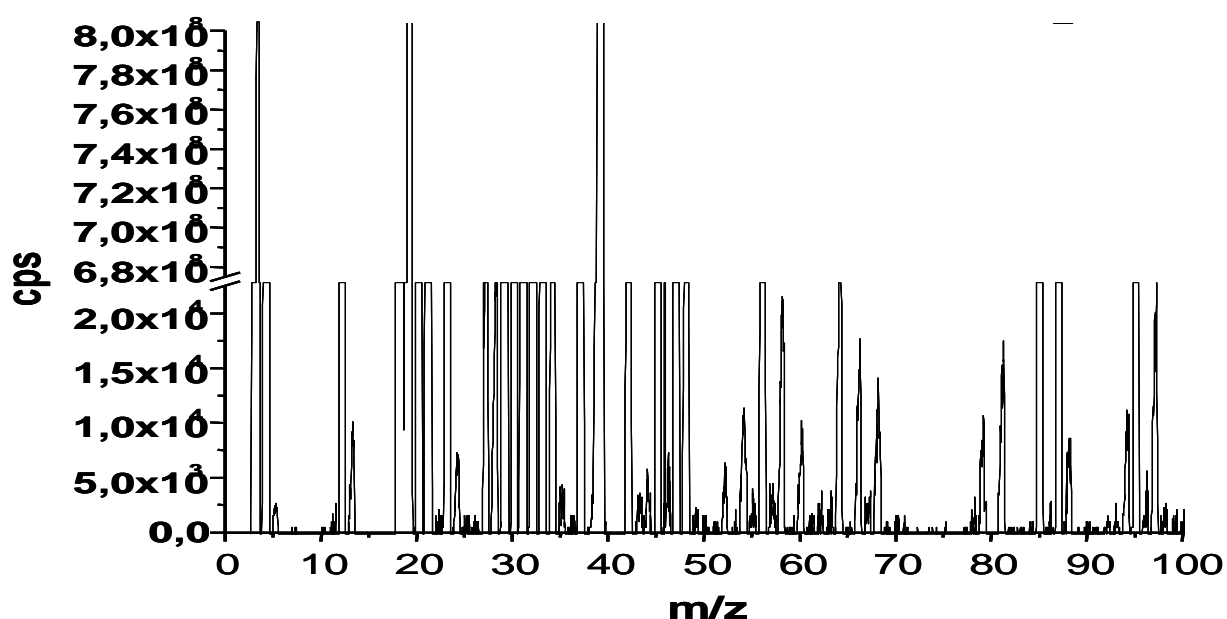


FIGURA 6. Espectro de fundo obtido por ICP-MS de uma solução tampão de fosfato 12,5 mmol L⁻¹ com a introdução de H₂ 60 mL min⁻¹ no cone skimmer região de massa/carga 0 a 100

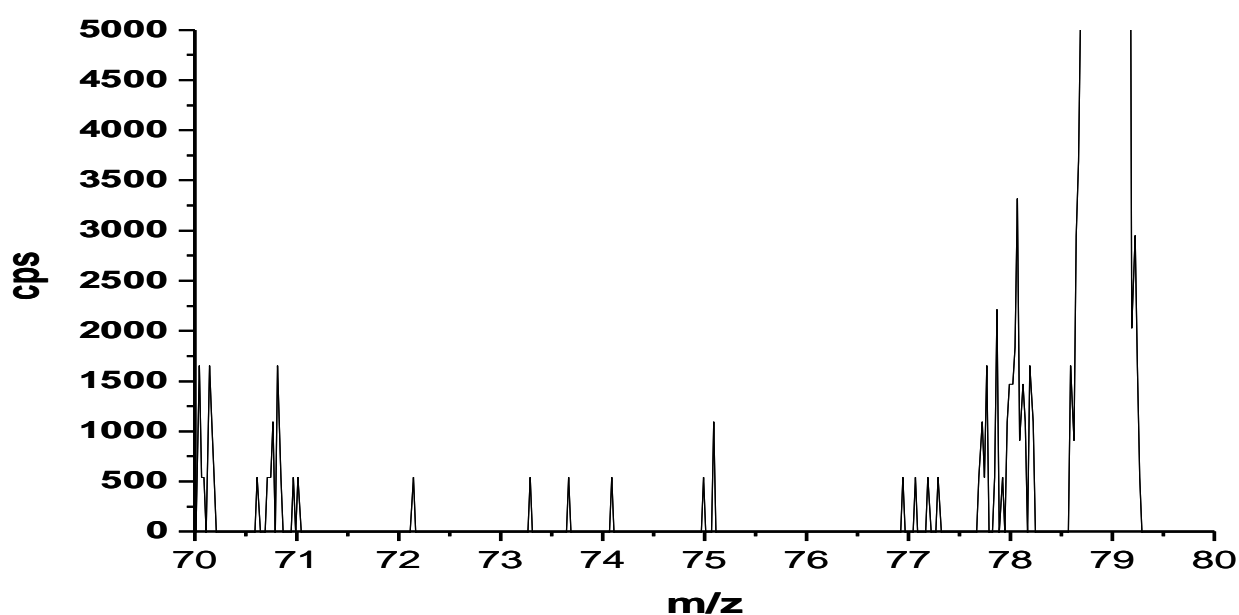


FIGURA 7. Espectro de fundo obtido por ICP-MS de uma solução tampão de fosfato 12,5 mmol L⁻¹ com a introdução de H₂ 60 mL min⁻¹ no cone skimmer região de massa/carga 70 a 80.

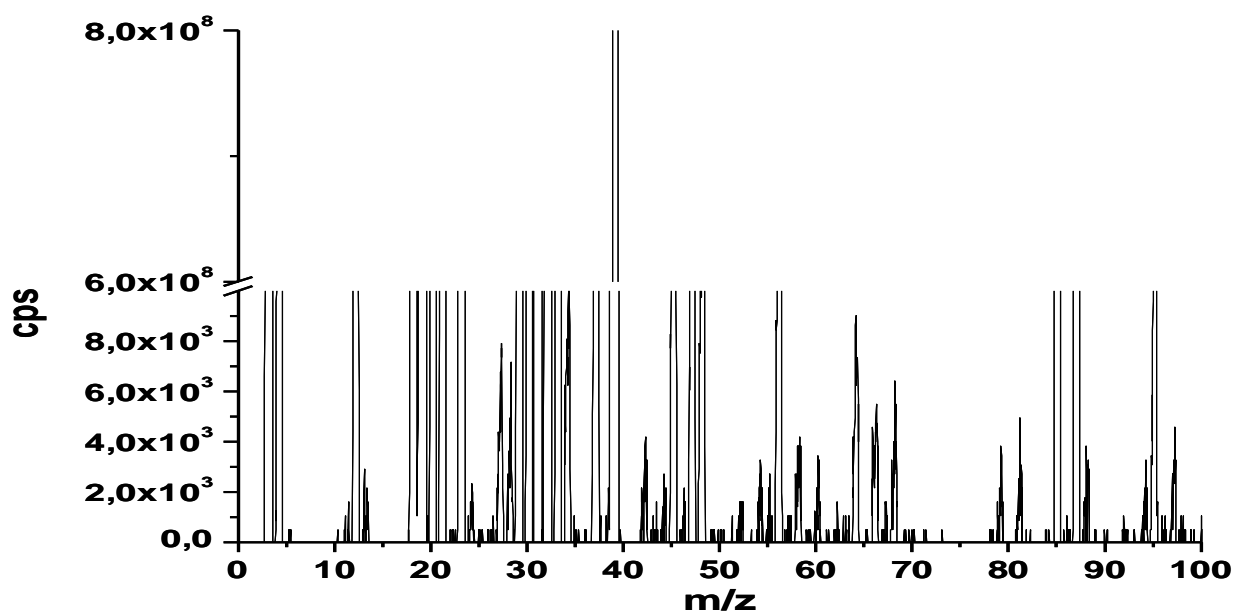


FIGURA 8. Espectro de fundo obtido por ICP-MS da solução tampão fosfato $12,5 \text{ mmol L}^{-1}$ com a introdução de H_2 80 mL min^{-1} no cone skimmer região de massa/carga 0 a 100.

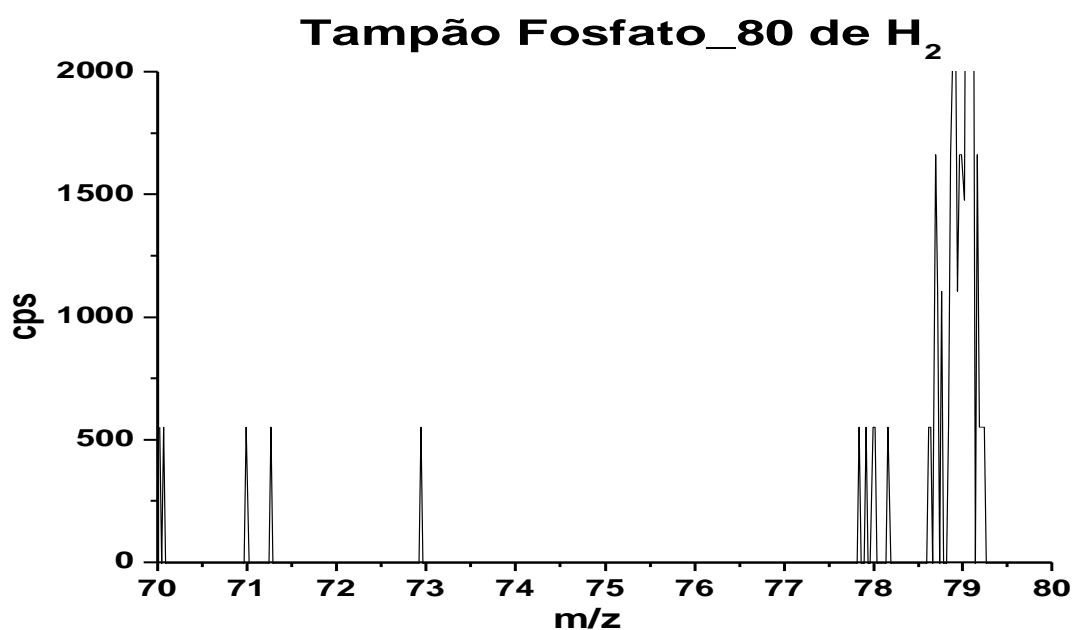


FIGURA 9. Espectro de fundo obtido por ICP-MS da solução tampão fosfato $12,5 \text{ mmol L}^{-1}$ com a introdução de H_2 80 mL min^{-1} no cone skimmer região de massa/carga 70 a 80.

Observa-se na Figura 5 um pico na razão massa/carga 75, provavelmente devido à formação de algum interferente poliatômico proveniente da fase móvel (K_2HPO_4/KH_2PO_4) utilizada para otimização da separação das espécies de As ($^{12}C^{31}P^{16}O_2^+$; $^{23}Na^{12}C^{40}Ar^+$), que podem posteriormente interferir na determinação de As presentes nas amostras. O mesmo foi observado quando H_2 foi introduzido sob uma vazão de 60 mL min^{-1} (Figura 6). Quando foi empregado gás H_2 sob a vazão de 80 mL min^{-1} através do cone skimmer, pode-se verificar que esse pico na razão massa/carga 75 não foi formado, ou seja, ocorreu a eliminação do interferente na razão massa/carga do As, conforme pode ser observado na Figura 8. No entanto, sabe-se que quando se faz a utilização da estratégia para minimização das possíveis interferências formadas, ocorre também uma perda na sensibilidade do sinal do analito de interesse.

Na literatura consta que as espécies de arsênio determinadas por análise de especiação são os cátions (AsB, AsC e TMA), os ânions (MMA e DMA) e ainda compostos não carregados com pH neutro (ácido arsenioso). Assim, a separação das espécies é dependente do pH do meio. Em pH neutro, arseniato, MMA e DMA estão presentes como ânions e AsC e TMA estão presentes como cátions. Conseqüentemente, a separação das espécies iônicas é realizada tanto pela cromatografia de troca catiônica como aniônica. Além desse tipo de cromatografia, a separação também pode ser realizada empregando a cromatografia de fase reversa, cromatografia gasosa e a cromatografia de permeação por gel ^[7].

A partir dos resultados apresentados, verificou-se que a melhor condição para a determinação de As é utilizando a interface CRI com a introdução de H_2 através do cone skimmer sob uma vazão de 80 mL min^{-1} . Realizou-se uma análise empregando uma solução contendo as 4 espécies

de As analisadas neste estudo com e sem o emprego da CRI, como pode ser visualizado na Figura 10.

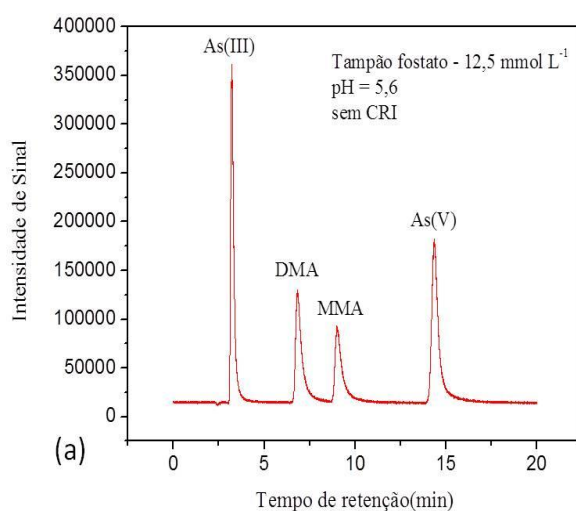


FIGURA 10. Cromatograma de uma solução contendo as espécies de arsênio para separação das espécies em função do tempo de retenção sem a utilização da CRI.

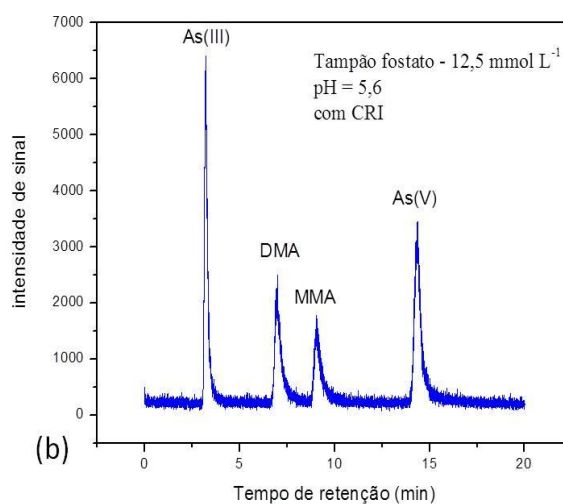


FIGURA 11. Cromatograma de uma solução contendo as espécies de arsênio para separação das espécies em função do tempo de retenção com a utilização da CRI com um vazão de 80 mL min^{-1} de H_2 .

Comparando-se os resultados obtidos com e sem a utilização da CRI, pode-se observar que quando se utiliza a CRI ocorre uma redução de aproximadamente 54 vezes do sinal analítico na razão m/z 75. Considerando que a concentração total de arsênio presente nas amostras é baixa, optou-se em trabalhar sem a utilização da CRI. Além disso, considerando que a principal interferência na determinação de As é a espécie $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$, deve ser ressaltado que, com a utilização da coluna de troca aniônica ocorre a separação de Cl^- presente nas amostras e das espécies de As. Portanto, é possível fazer a determinação sem interferências.

Deve ser ressaltado, que a escolha da fase móvel depende do tipo de coluna empregada, das espécies que serão separadas e do detector utilizado em uma análise de especiação. No caso da análise de especiação de As comumente são empregados tampão fosfato como fase móvel, coluna de troca aniônica para a separação das espécies As(III), As(V), MMA e DMA. Quando se deseja determinar AsB deve-se optar pela utilização de uma coluna de troca catiônica ^[79].

5.3.2 – Especiação empregando radiação micro-ondas no preparo de amostras

Baseado no trabalho de Huang *et al.* ^[81], o procedimento experimental apresentado a seguir teve como objetivo avaliar qual seria o tempo de extração mais eficaz para as espécies de As empregando radiação micro-ondas. Nessa etapa, foram avaliados tempos de extração de 10, 20 e 30 min, adicionando 8,0 mL de ácido nítrico $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ e utilizando 0,2 g de amostra de ração de frango.

Na Figura 12, pode-se visualizar o cromatograma obtido para um tempo de extração de 30 min para a amostra de ração de frango pertencente ao 1º dia do ciclo produtivo.

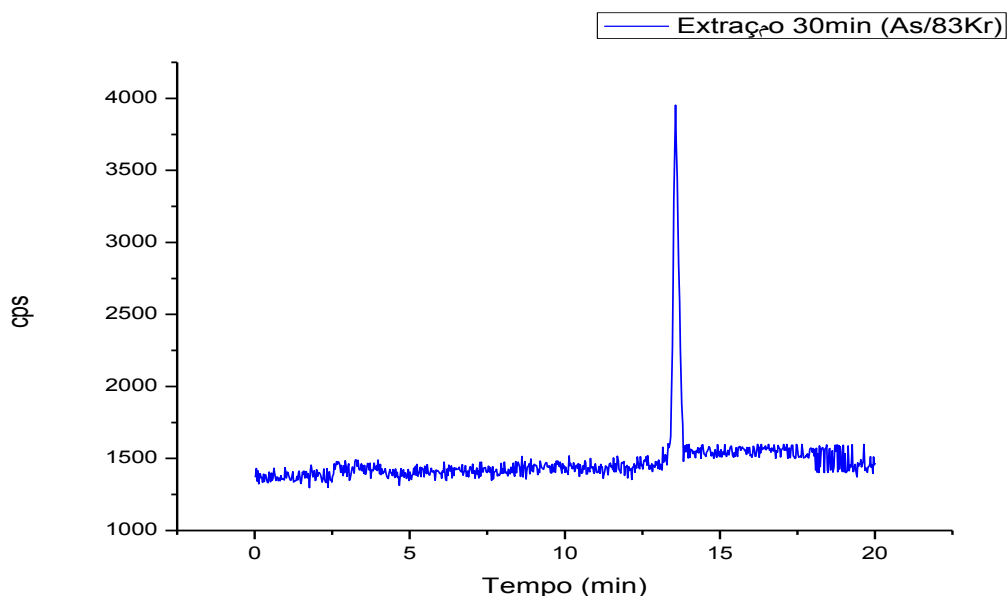


FIGURA 12. Cromatograma obtido em pH 5,6 e concentração da fase móvel igual a $12,5 \text{ mmol L}^{-1}$, coluna de troca aniônica, tempo de extração de 30 min para amostra de ração pertencente ao primeiro 1º dia do ciclo produtivo.

Como mostrado na Figura 11, pode-se observar o aparecimento de apenas um pico na extração empregando 30 min como tempo de extração. De acordo com o tempo de retenção observado na Figura 11 e comparando com o tempo de retenção estudados das espécies de As (Figura 10 e 11), pode-se afirmar que se refere à espécie As(V), pois, empregando uma solução padrão desta espécie o tempo de retenção é próximo de 15 min.

Como mencionado na Seção 5.1, o acoplamento entre HPLC e ICP-MS pode trazer algumas limitações no que diz respeito à introdução da fase móvel no ICP-MS. Baseado no que foi discutido anteriormente, optou-se por utilizar o método do padrão de interferência ^[85] para corrigir eventuais efeitos que pudessem ocorrer na determinação das espécies de As,

melhorando assim a exatidão nas determinações. Um novo padrão de interferência, $^{83}\text{Kr}^+$, que está presente como impureza no gás argônio para formação do plasma foi avaliado.

A utilização do IFS pode melhorar os limites de detecção das medidas. Em alguns casos, nos quais a introdução de solventes orgânicos pode causar a instabilidade do plasma, essa estratégia pode ser utilizada sem nenhum custo adicional, tal como demonstrado neste experimento.

Foi realizada a quantificação da espécie através da integração da área de pico usando IFS, e o seu valor foi comparado com o valor determinado empregando a digestão total com solução de ácido nítrico diluído em forno de micro-ondas com cavidade. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 23.

TABELA 23 – Determinação dos teores de As (mg kg^{-1}) em amostra de ração de frango, após extração empregando radiação micro-ondas e com a utilização do padrão de interferência ($^{83}\text{Kr}^+$).

Tempo (min)	Concentração (mg kg^{-1})
10	<0,03
20	<0,03
30	$0,35 \pm 0,06$
As (total)	$0,37 \pm 0,03$

(media \pm desvio padrão, n = 3)

Conforme os valores mostrados na Tabela 23, o tratamento dos dados obtidos foi realizado empregando o método do padrão de interferência, que consiste na utilização da razão entre o sinal analítico obtido para As pelo sinal do padrão de interferência ($^{83}\text{Kr}^+$) para as

soluções padrão, brancos e amostras. Comparando os diferentes tempos de extração, a extração empregando 30 min foi a que apresentou uma maior eficiência, no que diz respeito ao valor determinado. Como mencionado anteriormente, foi observado um único pico, referente à espécie As(V), que representou uma concentração de $0,35 \pm 0,06 \text{ mg kg}^{-1}$ (97% de recuperação). Para as extrações com 10 e 20 min, os teores de As(V) estavam abaixo dos limites de detecção e quantificação, i.e. 0,03 e 0,10 mg kg^{-1} . Aplicou-se também o teste *t* student com 95% de confiança e não foi observada nenhuma diferença estatística entre o valor determinado empregando o tempo de extração de 30 min e o valor determinado empregando a digestão total da amostra.

5.3.3 – Avaliação da exatidão do procedimento desenvolvido

A avaliação da exatidão do procedimento desenvolvido foi feita usando-se o material de referência certificado DORM-2. Nesse material de referência o valor certificado de AsB é $16,4 \pm 1,1 \text{ mg kg}^{-1}$ e a concentração total de arsênio é $18,0 \pm 1,1 \text{ mg kg}^{-1}$. Na literatura consta que as espécies de As(III) e AsB co-eluem usando uma coluna de troca aniônica e a separação das espécies pode ser realizada empregando uma coluna de troca catiônica [78].

A Figura 13 mostra o aparecimento de apenas um pico obtido correspondente a espécie AsB empregando uma coluna de troca aniônica e como fase móvel ($\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$). A quantificação da espécie foi feita utilizando-se o padrão de interferência e sem a utilização do padrão de interferência.

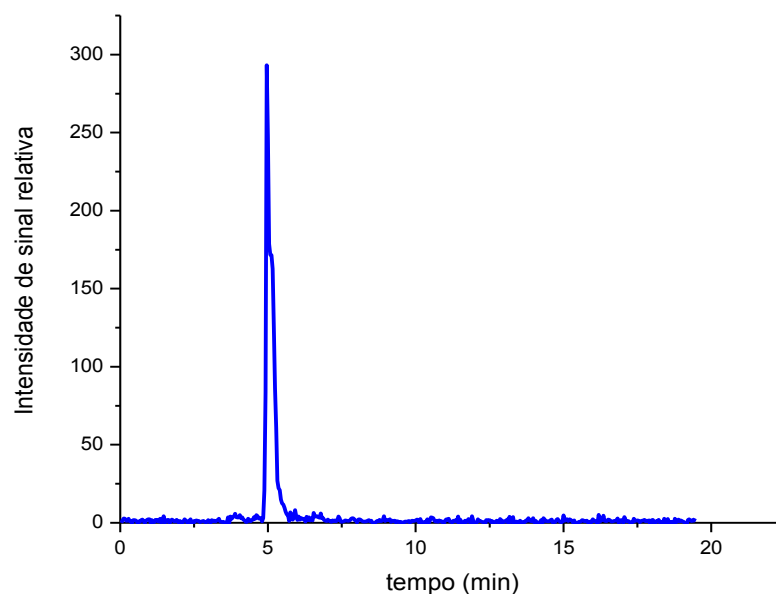


FIGURA 13. Cromatograma obtido em pH 5,6 para o material de referência certificado (DORM-2) com concentração da fase móvel de 12,5 mmol L⁻¹ e com emprego do padrão de interferência (⁸³Kr⁺).

A concentração de AsB determinada no Dorm-2 com o emprego do IFS foi de $15,22 \pm 0,20$ mg kg⁻¹ com recuperação de 93%. No entanto, a concentração determinada sem o uso do IFS foi de $13,04 \pm 0,53$ mg kg⁻¹ com uma recuperação de 76%.

Foi realizado também um teste de adição e recuperação para concentrações de 1 mg L⁻¹ das As(III), DMA e As(V) na amostra de ração empregando como tempo de extração 20 min, sendo que os valores determinados podem ser visualizados na Tabela 24. Realizou-se esse experimento devido à concentração encontrada na amostra estar abaixo do limite de detecção obtido para o método utilizado.

TABELA 24 – Teste de adição e recuperação com e sem o emprego de padrão de interferência.

Tempo (min)	As(V) %	DMA%	As(V)%*	DMA%*
20	273	317	93	105

* empregando o método do padrão de interferência ($^{83}\text{Kr}^+$)

Conforme os resultados mostrados na Tabela 24, os teores recuperados de As(V) e DMA foram de 93 e 105% empregando o método IFS. Por outro lado, valores de 273 e 317% foram obtidos sem o emprego de IFS.

5.4 – CONCLUSÕES PARCIAIS

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que o emprego da radiação micro-ondas e extração com solução de ácido nítrico diluído, aliados ao método IFS, podem ser alternativas interessantes para melhorar a exatidão na determinação de espécies de As por HPLC-ICP-MS.

O método do padrão de interferência pode ser considerado uma boa alternativa para contornar os inconvenientes causados pelas interferências espectrais provenientes do emprego da fase móvel na separação das espécies ($^{12}\text{C}^{31}\text{P}^{16}\text{O}_2^+$; $^{23}\text{Na}^{12}\text{C}^{40}\text{Ar}$) na m/z 75.

Pode-se observar a presença da espécie As(V) nas amostras de ração de frango, indicando assim uma fonte de contaminação desse elemento. Uma das possíveis rotas para explicar a ocorrência de As(V) na ração é a utilização de aditivos na ração animal.

6 – GERAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES VOLÁTEIS DE IODO UTILIZANDO MULTINEBULIZADOR *FLOW BLURRING*[®]

Esta parte do doutorado foi conduzida junto ao grupo de pesquisa do Laboratório de Espectroscopia Atômica-Masas y Química Analítica en Condiciones Extremas da Universidad de Alicante sob supervisão do Prof. Antonio H. Canals.

6.1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Alguns aspectos relacionados à determinação de iodo por ICP OES são considerados importantes porque podem afetar o desempenho analítico do método e, assim, comprometer os resultados das análises. A elevada energia de ionização (10,45 eV) do iodo resulta em que apenas 29% dos átomos estarão na forma ionizada o que implica em uma baixa sensibilidade do método. Além disso, a radiação emitida pelo iodo se situa na região do UV no vácuo (110 – 200 nm) o que implica em absorção da radiação emitida por componentes do ar (oxigênio e vapor de água). Para minimização desse inconveniente, deve-se utilizar sistema de detecção e óptica purgado com gases Ar ou N₂ [86-87].

A etapa de preparo de amostra é importante na determinação de iodo, para que se evite a perda do analito pela volatilidade e efeito de memória quando se emprega digestão ácida. No entanto, quando se trabalha com pH ácido, ocorre a oxidação do iodeto (I⁻) a iodo molecular (I₂) pelo oxigênio dissolvido. Porém, quando se trabalha com pH elevado essa oxidação é evitada, e, dessa forma, recomenda-se efetuar o preparo de amostras em

meio alcalino para que assim não ocorra a oxidação do I^- para I_2 , ou até mesmo a formação do HI ^[88-89].

Mesmo com todos os avanços na instrumentação analítica, a introdução de amostras nas técnicas de ICP OES e ICP-MS ^[90] apresenta algumas limitações para a formação e transporte do aerossol e, conseqüente, eficiência de nebulização. Desde o surgimento de técnicas baseadas em plasma acoplado indutivamente, busca-se o desenvolvimento de sistemas de introdução de amostra mais eficientes e/ou que possibilitem calibração em linha.

Em 1998, Hamier e Salim desenvolveram os primeiros sistemas de introdução de amostra constituídos por nebulizadores paralelos: um nebulizador era utilizado para a introdução da amostra, enquanto que o segundo nebulizador era utilizado para introdução dos padrões de calibração. Essa configuração tem a vantagem de combinar a simplicidade da calibração externa com a exatidão proporcionada pelas adições de padrão ^[91]. Com isso, ocorreu um grande interesse no desenvolvimento de sistemas de introdução de amostra mais eficientes, os quais possibilitem a aplicação da calibração em linha.

Em 2010, Aguirre *et al.* propuseram uma estratégia para a introdução de amostra baseada em sistemas de multi-nebulização cujos princípios de funcionamento fundamentam-se em novas tecnologias hidrodinâmicas. Uma dessas tecnologias hidrodinâmica é denominada de “*Flow Blurring Multiple Nebulization System*” (FBMNS). Esse sistema é composto por três orifícios de nebulização independentes baseados no princípio “Flow Blurring” e uma entrada comum de gás unido por um corpo de teflon (PTFE). Cada orifício de nebulização no sistema FBMNS é uma unidade independente, o que facilita a substituição de cada parte separadamente no caso de danos ou entupimentos. Outra vantagem é que o sistema FBMNS é totalmente compatível com as dimensões das câmaras de nebulização

disponíveis comercialmente. Uma característica interessante desta estratégia é a possibilidade do preparo de amostra diretamente na câmara de nebulização utilizando a adições de padrão em linha e/ou padrões internos pela mistura de aerossóis gerados em diferentes orifícios do nebulizador^[92].

Essa estratégia foi aplicada com sucesso em determinações com ICP OES para os elementos como Cd, Cu, Mn, Ni e Pb em amostra de material de referência certificado de água. A utilização do sistema FBMNS certamente viabiliza a investigação de outras estratégias analíticas relevantes, tais como a geração de espécies voláteis, compatibilização de matriz e controle de diluição para ajuste de faixa linear de calibração e interpolação.

O sistema de nebulização FBMNS é um dispositivo de alta eficiência que tem sido usado com sucesso na correção de efeitos de matriz em ICP OES através da calibração em linha (padrão interno e adições de padrão). O mesmo sistema também oferece a possibilidade de geração de espécies voláteis, o que possibilita algumas estratégias como a geração de hidretos e/ou geração de espécies voláteis por outros tipos de reações químicas.

Uma das alternativas para melhorar a eficiência de nebulização, atomização do analito e, conseqüentemente, os limites de detecção na determinação de iodo é realizar a geração de espécies voláteis (I₂ ou HI) empregando agentes oxidantes, tais como H₂O₂, NaNO₂ e HNO₃^[93].

Em 2008, Vtorushima *et al.* realizaram um estudo para otimização das condições de oxidação da geração de vapor para determinação de cloro, bromo e iodo em soluções aquosas por ICP OES. Os autores avaliaram a eficiência de vários agentes oxidantes e as espécies foram geradas empregando um separador gás-líquido^[94].

Baseado nesse mesmo estudo, em 2009 os mesmos autores realizaram a oxidação e redução da geração de vapor por ICP OES em amostras biológicas. O método foi proposto empregando como agente oxidante o peróxido de hidrogênio. Os limites de detecção depois da oxidação e da redução foram de 0,018 - 0,037 mg kg⁻¹ e 0,058 - 0,072 mg kg⁻¹, respectivamente, dependendo do tipo de amostras analisada [95].

O objetivo deste trabalho foi avaliar a geração e a determinação on-line das espécies voláteis de iodo (HI e I₂) utilizando um multinebulizador *Flow-Blurring*[®].

6.2 – Equipamentos e Acessórios

- Espectrômetro de emissão óptica acoplado ao plasma induzido, operado em modo axial (Perkin Elmer, Modelo Optima 4300DV, Norwalk, CT, EUA);
- Bomba peristáltica de 4 canais (Perimax 12, Spectec GmbH, Erding, Alemanha);
- Sistema de introdução de amostra - Multinebulizador *Flow Blurring*[®] (Ingeniatrics Tecnologías, Sevilla – Espanha);

Na Tabela 25 constam as condições operacionais empregadas no ICP OES com configuração axial adotadas para realização deste trabalho.

6.2.1 – Multinebulizador *Flow-Blurring*[®]

O multinebulizador é uma peça cilíndrica feita de Teflon[®], apresentando resistência mecânica e química. Existem três capilares para introdução de líquido e um capilar para introdução de gás, o qual é subdividido para os três capilares de entrada de líquido. O multinebulizador apresenta três orifícios para introdução de soluções o que facilita a promoção de reações na câmara de nebulização, que potencialmente aumentarão a sensibilidade das medidas. A geometria do multinebulizador possibilita fácil acoplamento com qualquer tipo de câmara de nebulização. A Figura 14 ilustra o multinebulizador *Flow-Blurring*[®].

TABELA 25 – Parâmetros operacionais adotados para o ICP OES.

Modo de observação	Axial
Gerador de radio frequência (MHz)	40
Potência de rádio-frequência aplicada (kW)	1,33
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	0,2
Vazão do gás nebulização (L min ⁻¹)	0,6
Vazão de líquido (μL min ⁻¹)	600
Tempo de leitura (ms)	10
Câmara de nebulização	Ciclônica (50 mL)
Nebulizador	FBMN [®]
Comprimento de onda (nm)	I: 178,2* Ge: 206,8*; 209,4*; 265,1*; In: 230,6**; 303,9*; 325,6*; Sc: 357,2**; 361,3**; 424,2**;

* I: linha atômica **II: linha iônica

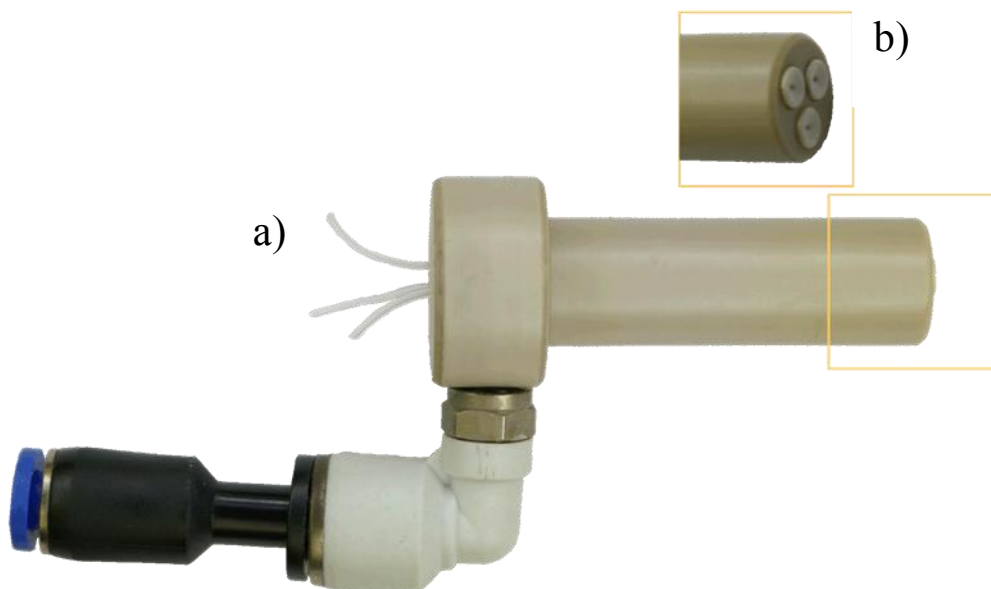


FIGURA 14. Fotografia do Multinebulizador *Flow-Blurring*[®] empregado no desenvolvimento deste trabalho: a) tubos para introdução das soluções, b) saída do nebulizador.

6.2.2 – Soluções e reagentes

Todas as soluções foram preparadas diariamente empregando reagentes de alta pureza analítica e água destilada-desionizada em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Os reagentes empregados neste trabalho foram: ácido nítrico (Merck, Darmstadt, Alemanha) para acidificar as amostras, peróxido de hidrogênio (Merck) como agente oxidante, tetrahidroborato de sódio (Scharlau, Barcelona, Espanha), hidróxido de potássio (Scharlau), iodeto de potássio (Scharlau) e iodato de potássio (Probus, Barcelona, Espanha). Soluções estoque de 1000 mg L⁻¹ de Sc, Ge e In (High-Purity Mono Element Standard Solutions, Charleston, Reino Unido) foram utilizadas para

preparar soluções diluídas para estudo de padrão interno. Sais de cloreto de sódio (Scharlau) e cloreto de potássio (Merck) foram usados no estudo de interferências.

6.2.3 – Amostras

As amostras de sal de cozinha empregadas neste trabalho foram adquiridas no comércio local da cidade de San Vicente del Raspeig – Alicante – Espanha, sendo que as marcas foram selecionadas aleatoriamente.

6.2.4 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

6.2.4.1 – Estudo do reagente

Baseado nos reagentes indicados na literatura como agentes oxidantes e redutores, foram feitos três experimentos para verificar qual seria o melhor reagente para a formação das espécies voláteis de iodo. No primeiro experimento, realizou-se um estudo para verificar qual seria o reagente mais eficaz para realizar a redução partindo do KIO_3 . Esse experimento consistiu na utilização de uma única solução 50 mg L^{-1} de IO_3^- e como agentes redutores NaBH_4 2% (m v^{-1}) e em meio básico (KOH 0,1% m v^{-1}), e a adição de HCl 4 mol L^{-1} . O segundo experimento consistiu na verificação do reagente mais eficaz para realizar a oxidação partindo do KI . Esse experimento consistiu na utilização de uma solução de 50 mg L^{-1} de I^- e como agentes oxidantes H_2O_2 5% (v v^{-1}) e NaNO_3 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, ambos em meio ácido. O terceiro experimento consistiu na formação das espécies voláteis de iodo por meio da reação on-line. Efetuou-se um estudo

empregando uma solução 25 mg L^{-1} de I^- e 25 mg L^{-1} IO_3^- , uma solução NaBH_4 2% (m v^{-1}) em meio básico (KOH 0,1% m v^{-1}) e H_2O_2 5% (v v^{-1}) em meio ácido (HNO_3 4 mol L^{-1}).

6.2.4.2 – Planejamento Experimental

No intuito de realizar a otimização do procedimento, foi realizado um planejamento fatorial ortogonal a fim de obter a região com a máxima intensidade de sinal de emissão do iodo. Nesse estudo foram avaliadas as seguintes variáveis: potência de rádio-frequência aplicada (kW), vazão do gás de nebulização (L min^{-1}), vazão de amostra ($\mu\text{L min}^{-1}$) e concentrações de NaBH_4 , H_2O_2 e HNO_3 .

Após estabelecer as variáveis significativas utilizando o planejamento descrito anteriormente, realizou-se um planejamento experimental composto central 2^3 + estrela + ponto central (triplicata) totalizando 23 experimentos para otimização das variáveis mais significativas.

Os dados experimentais foram processados empregando o programa NEMRODW 2007_03 (Marseille, França), e para esses estudos utilizou-se uma solução 50 mg L^{-1} de I^- e IO_3^- .

6.2.4.3 – Avaliação do efeito de concomitantes

Efeitos matriciais podem ser causados pela presença de elementos em maiores concentrações e por elementos facilmente ionizáveis presentes na amostra que podem afetar o sinal do analito. Por outro lado, a utilização de um padrão interno pode corrigir os erros associados a variações instrumentais e efeitos causados pela matriz, melhorando assim a precisão e

exatidão da análise. Portanto, avaliou-se a eficiência de três padrões internos: Ge, Sc e In.

Para a avaliação do efeito de matriz foram preparadas misturas dos sais KCl e NaCl (1:1 v v⁻¹) com as seguintes concentrações 100; 500; 1000; 2000 e 4000 mg L⁻¹ de cada um dos cátions. Posteriormente, realizou-se um estudo variando a concentração de NaCl 100; 500; 1000; 2000; 4000 e 8000 mg L⁻¹ para estudar o efeito do sinal do íon Na⁺ sobre o sinal do iodo, empregando o multinebulizador *Flow-Blurring*[®].

6.2.4.4 – Determinação de iodo em amostras de sal de cozinha

Foram analisados dois tipos de amostras de sal de cozinha, dentre elas uma continha iodo adicionado na forma de KI e outra continha o iodo adicionado na forma de KIO₃.

O preparo das soluções de sal de cozinha foi baseado na obtenção de uma concentração final de sódio 8000 mg L⁻¹, com base no estudo do efeito de concomitantes. Assim, dissolveu-se 0,2 g de amostras de sal de cozinha iodado em 10,0 mL de água.

No intuito de avaliar o desempenho do multinebulizador *Flow-Blurring*[®] aliado ao método do padrão interno para quantificação das amostras, foi realizada uma comparação com o nebulizador *Micromist*[®], associado ao método de compatibilização de matriz e também ao método do padrão interno. Essas estratégias foram empregadas devido à interferência causada pelo íon Na⁺ no sinal do iodo.

A exatidão do procedimento foi avaliada com experimentos de adição e recuperação para as amostras de sal iodadas.

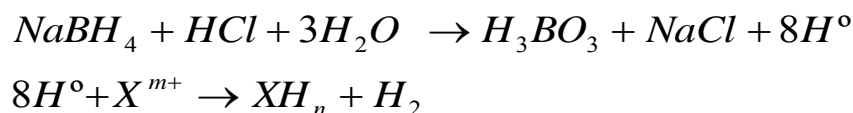
6.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1 – Estudo do reagente

A escolha do melhor reagente se deu através da obtenção de uma maior intensidade do sinal do iodo apresentada durante a realização dos estudos das reações. De acordo com Vtorushima et *al.*, quando se utiliza H_2O_2 em meio ácido favorece a formação de uma espécie volátil de iodo (I_2) é favorecida conforme a equação ^[94]:



As equações abaixo representam simplificada às reações que ocorrem para geração de hidretos, que em meio contendo iodeto provavelmente possibilitam a geração de HI ^[96]:



Os resultados apresentados na Figura 15 foram obtidos seguindo a descrição realizada na Seção 6.2.4.1 e comparando-se para os reagentes empregados as intensidades de sinal de emissão de iodo.

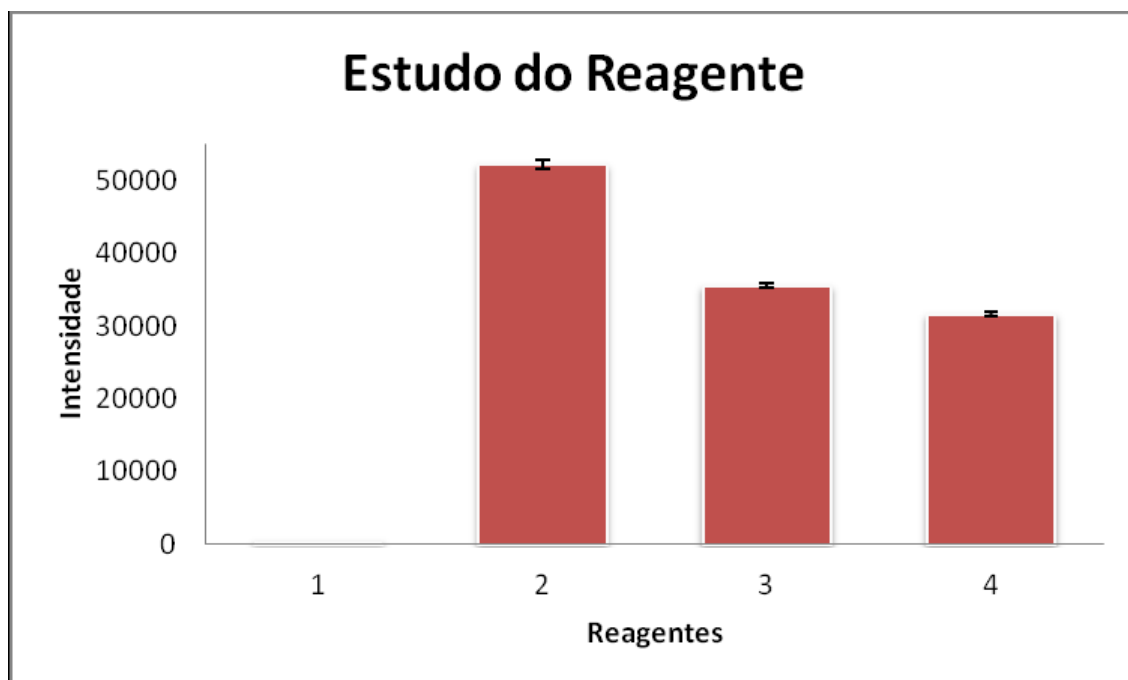


FIGURA 15. Intensidades de sinais de emissão de iodo usando os seguintes meios para a formação de espécies voláteis: 1) meio aquoso, 2) reação de oxidação e redução on-line (NaBH_4 , H_2O_2 e HNO_3), 3) reação de oxidação (HCl e H_2O_2) e 4) reação de redução (NaBH_4 e HCl).

A Figura 15 ilustra os resultados dos 4 experimentos que foram realizados no intuito de verificar qual proporcionava maior ganho analítico para o iodo. Assim, pode-se observar que quando se promoveu a oxidação/redução on-line empregando H_2O_2 como agente oxidante em meio HNO_3 (introdução no tubo 1) e como agente redutor NaBH_4 em meio KOH (introdução no tubo 2) (experimento 4), obteve-se um aumento de duas vezes no sinal analítico para o iodo. Com isso, todos os experimentos subsequentes foram realizados empregando esses reagentes. Ressalta-se que não foi observado sinal em meio aquoso (experimento 1).

Durante a realização deste experimento, observou-se que estava ocorrendo à formação de borbulhas no interior da câmara de nebulização,

que pode ser um indicativo da formação das espécies voláteis. Este fenômeno pode ser visualizado na Figura 16.

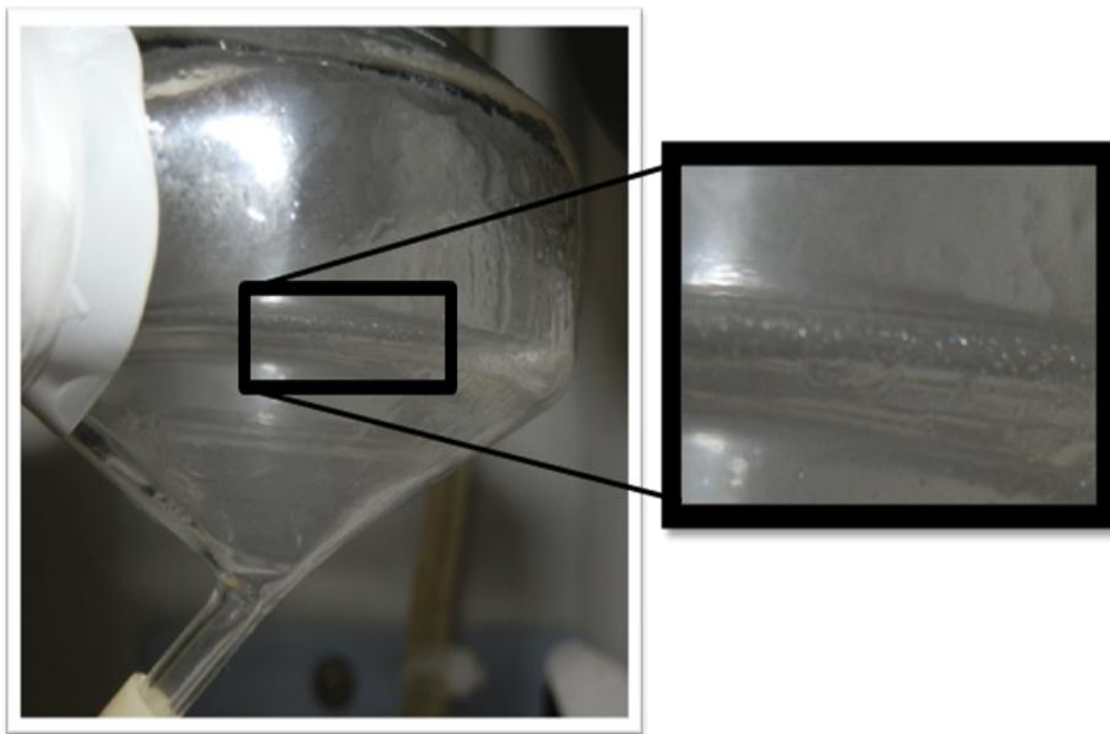


FIGURA 16. Fotografia da câmara de nebulização e imagem do interior da câmara de nebulização.

6.3.2 – Estudo das variáveis significativas

As variáveis avaliadas neste estudo foram: potência de radio-frequência aplicada (kW), vazão do gás de nebulização (L min^{-1}), vazão de amostra ($\mu\text{L min}^{-1}$), concentração de NaBH_4 , concentração de HCl e concentração de H_2O_2 . Cada parâmetro foi estudado em 2 níveis (baixo e alto) e estão listados na Tabela 26.

TABELA 26 – Variáveis, níveis e matriz de experimentos empregados no planejamento fatorial

Nº Exp.	Potência de rádio- frequência aplicada (kW)	Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	Vazão da amostra (µL min ⁻¹)	[NaBH ₄] % (m v ⁻¹)	[H ₂ O ₂] % (m v ¹)	[HNO ₃] (mol L ⁻¹)
1	1,3	0,8	300	2	10	4
2	1,1	0,8	600	0,5	10	4
3	1,3	0,6	600	2	5	4
4	1,1	0,8	300	2	10	2
5	1,1	0,6	600	0,5	10	4
6	1,1	0,6	300	2	5	4
7	1,3	0,6	300	0,5	10	2
8	1,3	0,8	300	0,5	5	4
9	1,3	0,8	600	0,5	5	2
10	1,1	0,8	600	2	5	2
11	1,3	0,6	600	2	10	2
12	1,1	0,6	300	0,5	5	2

As variáveis vazão de introdução de amostra e concentrações de NaBH₄ e HNO₃ apresentaram um efeito positivo sobre a geração das espécies voláteis de iodo. Ou seja, quando se trabalhou com uma vazão maior de introdução de reagentes, maiores concentrações de NaBH₄ e HNO₃, ocorreu uma maior formação de espécies voláteis de iodo.

A Figura 17 mostra o gráfico dos efeitos (Diagrama de Pareto), no qual é possível identificar as variáveis mais significativas. Pode ser observado que as variáveis significativas são a potência aplicada e concentração de peróxido que apresentam efeito positivo e a variável vazão do gás de nebulização que apresenta efeito negativo na determinação das espécies voláteis de iodo, que indica que para se obter um melhor sinal do iodo deve-ser trabalhado com essas variáveis significativas. As

informações obtidas no gráfico de Pareto sobre as outras variáveis indica que deve-se trabalhar com o nível mais alto para se obter o melhor sinal analítico de iodo.

Assim, é preciso otimizar as variáveis mais significativas (potência aplicada, vazão do gás de nebulização e concentração de peróxido) para que se possa estabelecer a melhor condição de sensibilidade para ser empregada neste trabalho.

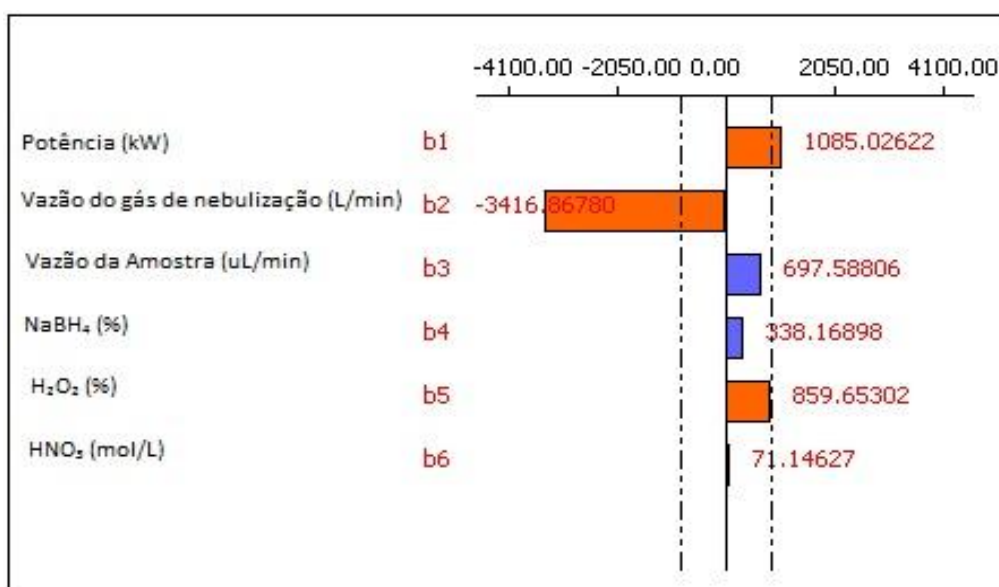


FIGURA 17. Principais efeitos do planejamento fatorial empregado na geração e determinação das espécies voláteis de iodo.

6.3.3 – Otimização das variáveis significativas

Visando a otimização das variáveis mais significativas realizou-se um planejamento 2^3 + estrela + ponto central (triplicata) com 23 experimentos (Tabela 27) para otimização das variáveis mais significativas: potência, vazão do gás de nebulização e concentração de H₂O₂.

TABELA 27 – Variáveis, níveis e matriz de experimento empregados no planejamento experimental composto central

Nº Exp.	Potência aplicada (kW)	Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	[H ₂ O ₂] % (m m ¹)	Potência aplicada (kW)	Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	[H ₂ O ₂] % (m m ¹)
1	-1,0	-1,0	-1,0	1,10	0,60	5,0
2	1,0	-1,0	-1,0	1,30	0,60	5,0
3	-1,0	1,0	-1,0	1,10	0,80	5,0
4	1,0	1,0	-1,0	1,30	0,80	5,0
5	-1,0	-1,0	1,0	1,10	0,60	10,0
6	1,0	-1,0	1,0	1,30	0,60	10,0
7	-1,0	1,0	1,0	1,10	0,80	10,0
8	1,0	1,0	1,0	1,30	0,80	10,0
9	-1,68	0,0	0,0	1,03	0,70	7,5
10	1,68	0,0	0,0	1,37	0,70	7,5
11	0,0	-1,68	0,0	1,20	0,53	7,5
12	0,0	1,68	0,0	1,20	0,87	7,5
13	0,0	0,0	-1,68	1,20	0,70	3,3
13	0,0	0,0	1,68	1,20	0,70	11,7
15	0,0	0,0	0,0	1,20	0,70	7,5
16	0,0	0,0	0,0	1,20	0,70	7,5
17	0,0	0,0	0,0	1,20	0,70	7,5
18	0,0	0,0	0,0	1,20	0,70	7,5
19	0,0	0,0	0,0	1,20	0,70	7,5
20	0,0	0,0	0,0	1,20	0,70	7,5
21	0,0	0,0	0,0	1,20	0,70	7,5
22	0,0	0,0	0,0	1,20	0,70	7,5
23	0,0	0,0	0,0	1,20	0,70	7,5

Na Figura 18 estão apresentadas as superfícies de respostas obtidas neste experimento. Pode-se observar que para a obtenção da melhor intensidade de sinal do analito é necessário utilizar um maior valor de potência aplicada (1,3 kW), concentração de peróxido de hidrogênio 6% (v v⁻¹) e menor vazão do gás de nebulização, sendo que essa última condição amplia o tempo disponível para que ocorram reações na câmara de nebulização. Todos os experimentos subsequentes foram realizados com a condição estabelecida nos planejamentos experimentais.

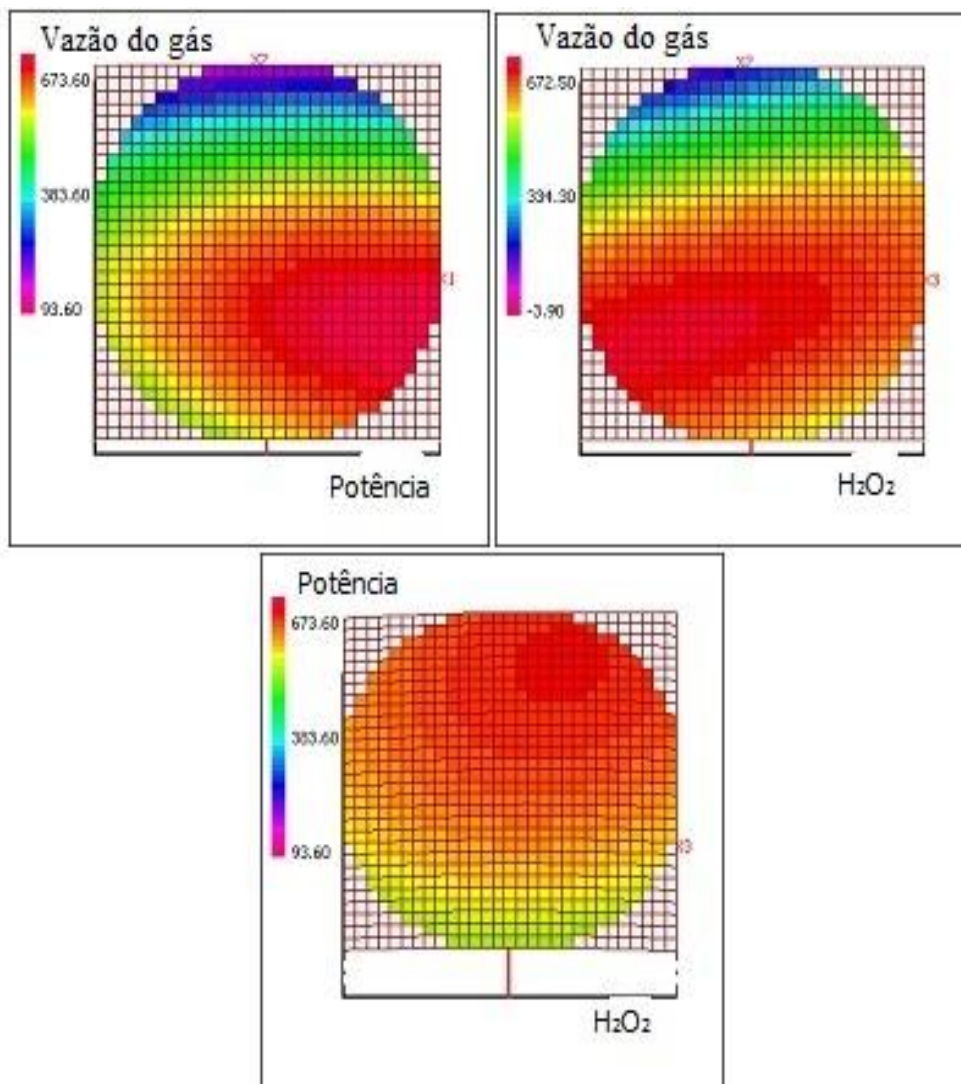


FIGURA 18. Superfície de respostas obtidas na otimização dos parâmetros para a geração de espécies voláteis de iodo empregando FBMN para a introdução da amostra. Figura (a) foi fixada a variável concentração de H₂O₂, e obtida a melhor condição para as variáveis: fluxo do gás de nebulização e potência; (b) foi fixada a variável potência, e obtida a melhor condição para as variáveis fluxo do gás de nebulização e concentração de H₂O₂; (c) foi fixada a variável fluxo do gás de nebulização, e obtida a melhor condição para as variáveis potência e concentração de H₂O₂.

Deve ser ressaltado que quando se trabalha com uma maior potência aplicada de rádio-frequência, tem-se uma maior população de átomos

excitados no plasma devido à energia disponível para excitação. No entanto quando se trabalha com um menor fluxo do gás de nebulização dois efeitos podem ser observados: diminuição da introdução de solventes e um aumento no tempo de residência de átomos no plasma, assim aperfeiçoa-se a transferência de energia para o analito, proporcionando um maior aproveitamento da energia disponível para promoção dos processos de excitação. Por fim, quando se emprega o reagente H_2O_2 em meio ácido ocorre o favorecimento da oxidação das espécies de iodo, tal como descrito na literatura.

6.3.4 – Avaliação do efeito de concomitantes

Foi realizado um estudo de potenciais interferentes considerando-se as amostras de sal de cozinha. Assim, realizou-se um estudo variando-se as concentrações de NaCl e KCl. Avaliou-se também a eficiência da padronização interna (Ge, Sc e In na concentração de 1 mg L^{-1}) na presença desses sais e uma solução 50 mg L^{-1} de I^- e IO_3^- foi utilizada como solução de referência. Na Figura 17, estão apresentados os resultados para os diferentes padrões internos na presença da mistura de concomitantes (NaCl:KCl 1:1)(v v^{-1}).

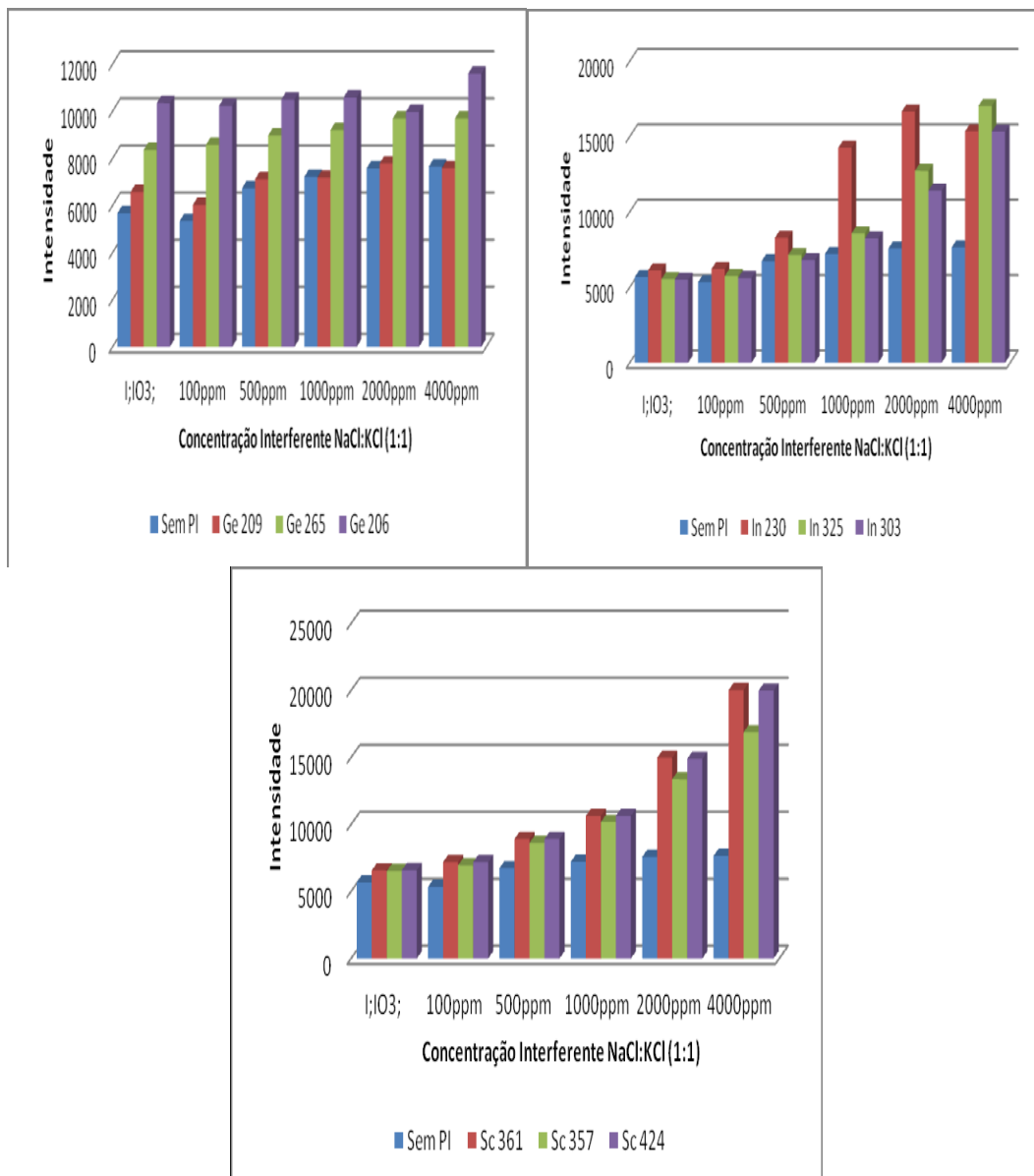


FIGURA 19. Comportamento dos padrões internos avaliados na presença dos concomitantes na concentração descrita de 1:1 de ambos concomitantes estudados.

Observando os resultados apresentados na Figura 19, nota-se que o padrão interno mais eficaz para corrigir os efeitos de matriz causados pelos sais estudados foi o Ge 209 nm. Acredita-se que esse resultado é devido a possível formação de hidreto de Ge, uma espécie volátil que pode ter o mesmo comportamento das espécies voláteis de iodo estudadas neste trabalho.

Depois da escolha do melhor elemento a ser utilizado como padrão interno, realizou-se um estudo simulando a matriz da amostra com a finalidade de avaliar até que concentração dos íons (Na^+ , K^+) presentes no sal o padrão interno poderia ser utilizado para corrigir o efeito de matriz. Apresentam-se na Figura 20 os resultados para o nebulizador *MicroMist*[®].

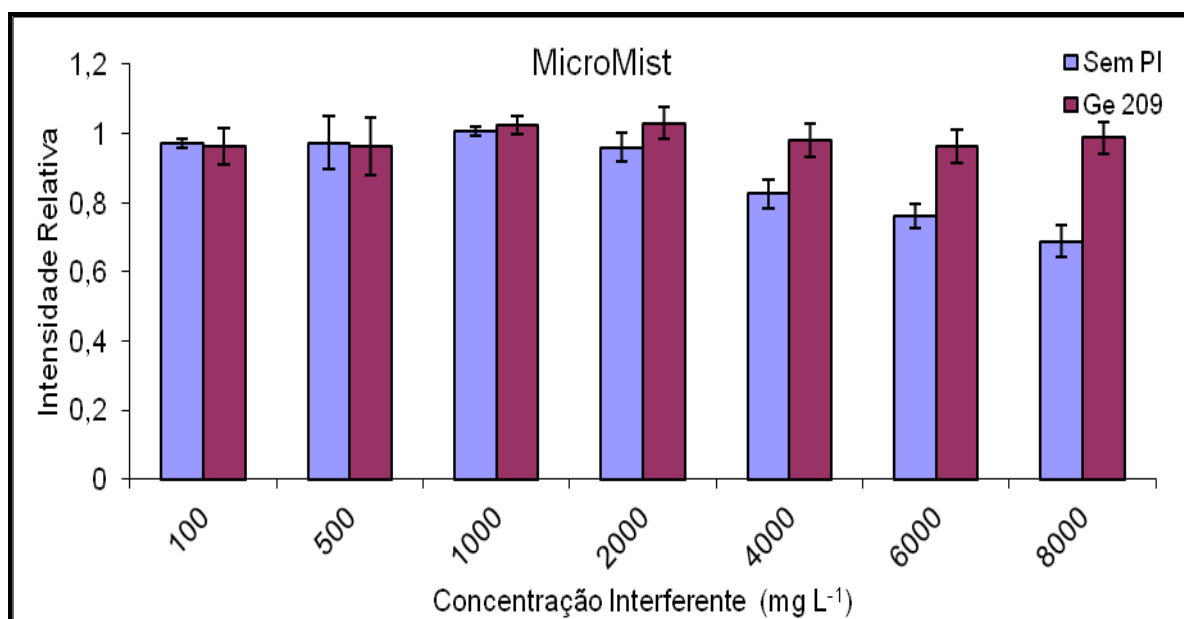


FIGURA 20. Comportamento do padrão interno Ge 209 ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$) na presença do interferente NaCl, empregando o nebulizador *Micromist*[®].

Observa-se a Figura 20, que até uma concentração de 8000 mg L^{-1} do interferente NaCl o padrão interno minimizou os efeitos causados sobre os sinais de emissão do iodo. Isso é claramente visualizado pela diminuição dos sinais de iodo a partir de 4000 mg L^{-1} de Na à medida que aumenta a concentração do sal.

O mesmo estudo foi realizado empregando o multinebulizador *Flow-Blurring*[®], e o resultado pode ser visualizado na Figura 21.

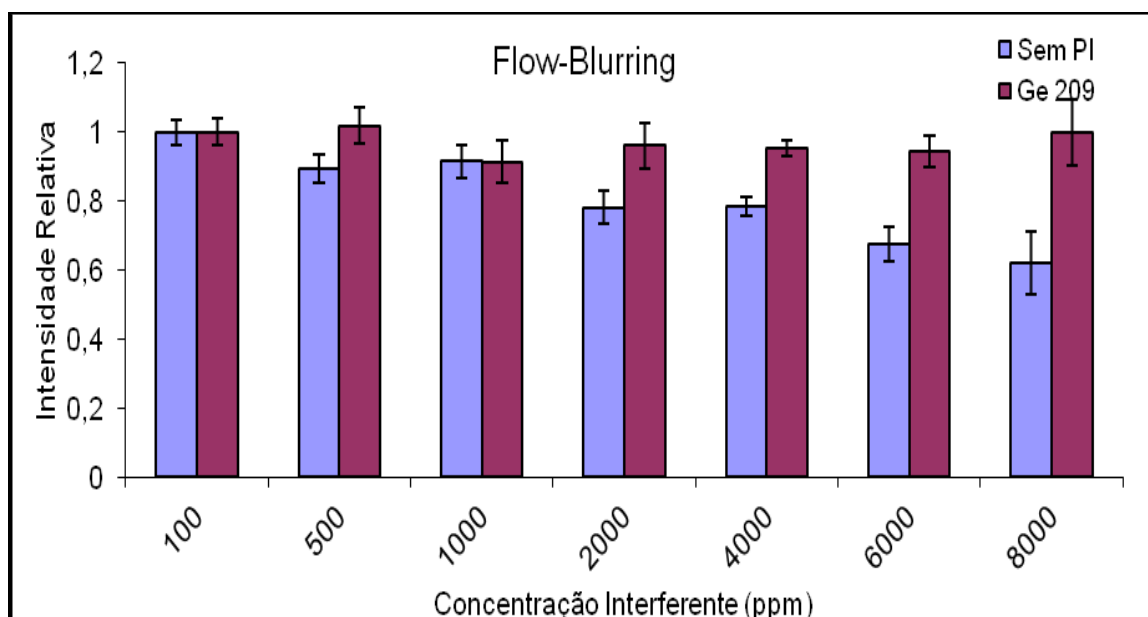


FIGURA 21. Comportamento do padrão interno Ge 209 ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$) na presença do interferente NaCl, empregando o multinebulizador *Flow-Blurring*[®].

Pode-se observar que quando se trabalha com uma concentração de 8000 mg L^{-1} do interferente, o padrão interno Ge 209 minimizou os efeitos sobre os sinais analíticos do iodo. Acredita-se que esse comportamento possa ser atribuído ao fato do elemento Ge, se comportar da mesma forma que as espécies voláteis de iodo geradas nesse trabalho. Evidenciando assim, que pode ser uma estratégia analítica empregada na determinação deste elemento na presença de interferente.

6.3.5 – Parâmetros analíticos

Para avaliação dos parâmetros analíticos, foram feitas comparações entre o nebulizador *Micromist*[®] e o multinebulizador *Flow-Blurring*[®]. A comparação foi realizada da seguinte maneira: quando se empregou o nebulizador comercial *Micromist*[®] as medidas foram realizadas com uma solução de I^-/IO_3^- e intercalação entre medidas de uma solução de KOH

0,1% m v⁻¹ e quando foi utilizado o multinebulizador *Flow-Blurring*[®] (reação oxidação/redução on-line) empregou-se uma solução de I⁻/IO₃⁻. Para os experimentos empregando *Flow-Blurring*[®] foi preparada uma solução 50 mg L⁻¹ de I⁻ e IO₃⁻ introduzida no orifício 1, no orifício 2 uma solução do agente redutor e no orifício 3 uma solução do agente oxidante.

Os parâmetros analíticos limite de detecção (LOD), sensibilidade (coeficiente angular) e coeficiente de correlação (r), foram obtidos utilizando-se padrão interno e podem ser visualizados na Tabela 28.

TABELA 28 – Parâmetros analíticos obtidos com emprego do nebulizador *Flow-Blurring*[®]

	<i>Flow-Blurring</i> [®]		<i>Micromist</i>
	H ₂ O	Oxidação-Redução	
LOD (µg L ⁻¹)	230 µg L ⁻¹	52 µg L ⁻¹	226 µg L ⁻¹
Sensibilidade (cps L mg ⁻¹)	105,7	49,4	110,2
Coeficiente de correlação linear (r):	0,9914	0,9992	0,9988

Observa-se que o limite de detecção empregando as reações de oxidação/redução (FB[®]MN) on-line é melhor do que quando se emprega H₂O (FB[®]MN). Com relação à sensibilidade, pode-se verificar que o procedimento promovendo reações de oxidação/redução on-line é mais sensível quando comparada com H₂O, isso pode ser explicado pela maior quantidade de espécie volátil que está sendo formada e transportada ao plasma.

6.3.6 – Aplicações

Sabe-se que o teor de iodo adicionado nas amostras de sal de cozinha é de 60 mg kg^{-1} e o mesmo pode ser adicionado na forma de KI ou KIO_3 . A determinação de iodo nas amostras de sal de cozinha empregando o multinebulizador *Flow-Blurring*[®] foi realizada empregando o método do padrão interno. A determinação empregando o multinebulizador *Flow-Blurring*[®] foi realizada na amostra de sal 1 utilizando a linha de emissão de iodo 178,215 nm. Já para a amostra de sal 2, a determinação foi realizada empregando ICP-MS.

TABELA 29. Determinação dos teores de iodo em amostras de sal de cozinha.

	<i>Flow-Blurring</i> [®] <i>Padrão Interno</i>	<i>ICP-MS</i>
	Valor determinado (mg kg^{-1})	Valor determinado (mg kg^{-1})
Sal 1	131 ± 8	-
Sal 2	$< 0,055^*$	$0,06 \pm 0,02$

*limite de detecção

Na Tabela 29 pode-se observar que o teor determinado em uma amostra foi maior que o limite que estava especificado na embalagem que é de 60 mg kg^{-1} . No entanto, para a amostra de sal 2 não foi possível fazer a determinação, por isso optou-se por fazer a quantificação empregando uma técnica mais sensível, neste caso ICP-MS com o nebulizador *MicroMist*[®] e o resultado determinado foi abaixo do especificado pela fabricante. Para avaliação da exatidão do método proposto, foram realizados experimentos de adição e recuperação nas amostras seguindo os métodos adotados, assim o valor adicionado foi de 2 mg kg^{-1} de iodo na forma de KI e KIO_3

seguindo o forma especificada do fabricante. Os valores de recuperação para a amostra de sal empregando o multinebulizador *Flow-Blurring*[®] foi de 98% (método de padrão interno). Foi realizado este mesmo experimento de adição e recuperação utilizando a amostra de sal 2 e a recuperação obtida empregando o multinebulizador *Flow-Blurring*[®] foi de 104% (método de padrão interno). Como as recuperações foram quantitativas, pode-se afirmar que os métodos aplicados apresentaram boa exatidão e confiabilidade apesar da complexidade da matriz.

6.4 – CONCLUSÕES PARCIAIS

A utilização dos reagentes tetraborato de sódio, ácido nítrico e peróxido de hidrogênio, aliados ao multinebulizador *Flow-Blurring*[®] possibilitaram a geração de espécies voláteis e, conseqüentemente, o aperfeiçoamento da sensibilidade para a determinação de iodo, com um aumento de 2 vezes do sinal quando comparado com o nebulizador *MicroMist*[®].

Conforme descrito na Seção 6.3.1., com a utilização do agente oxidante (peróxido de hidrogênio em meio ácido) ocorreu à formação da espécie volátil I₂.

O padrão interno Ge 209 nm foi mais eficiente para corrigir os efeitos matriciais, minimizando os erros que poderiam estar associados à medida quando se aumenta a concentração dos concomitantes.

Comparando-se com os trabalhos encontrados na literatura que determinaram iodo gerando espécies voláteis por oxidação ou por redução, pode-se dizer que o limite de detecção encontrado neste trabalho é similar. Dados de literatura mostraram que para uma amostra de leite o limite de

detecção foi de $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$ (oxidação) e $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$ (redução), enquanto que para amostras de plantas o limite de detecção foi de $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ (oxidação) e $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$ (redução). Para soluções aquosas o limite de detecção estabelecido foi de $0,4 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (oxidação). Assim, pode-se concluir que o método proposto para geração de espécies voláteis empregando o multinebulizador *flow-blurring*[®] pode ser considerado uma boa estratégia para determinação de iodo [94-95].

7 – CONCLUSÕES GERAIS

Com os resultados apresentados, pode-se verificar a ocorrência de arsênio, selênio e cromo nas amostras de coxa, fígado, peito, água de descongelamento, ração de frango e cama de frango. A partir dos dados obtidos na análise de especiação, pode-se verificar a presença da espécie As(V) e Cr(VI) nas amostras estudadas, indicando assim uma potencial fonte de contaminação para a cadeia alimentar ou meio ambiente. Os teores de cádmio e chumbo nas amostras estudadas estavam abaixo dos limites de detecção dos procedimentos desenvolvidos.

Os procedimentos desenvolvidos para preparo de amostras visando a determinação de constituintes inorgânicos com emprego de ácido nítrico diluído aliado à pressurização dos frascos reacionais podem ser considerados uma alternativa na prática da química verde, uma vez que se reduz o volume de ácido empregado e, conseqüentemente, minimizam-se os resíduos gerados.

A utilização do H_2O_2 como fonte de oxigênio possibilita a decomposição de amostras usando soluções diluídas de ácido nítrico, tornando-se uma alternativa para laboratórios que não disponibilizam do frasco de digestão que possibilita a pressurização com oxigênio.

A solução de CFA-C utilizada no preparo de amostras em meio alcalino para extrair espécies de Cr(VI) pode ser considerada um novo reagente para especiação redox de cromo, no entanto, estudo sobre a estabilidade da espécie nesse tipo de solução extratora ainda deve ser realizado.

O emprego da radiação micro-ondas com ácido nítrico diluído pode ser considerado um procedimento eficiente para extração de espécies de

arsênio presente nas amostras de ração de frango, pois utiliza um reagente menos agressivo comparativamente aos outros procedimentos descritos na literatura, tal como o emprego de metanol.

O novo método proposto para tratamento de sinais em ICP-MS com base no padrão de interferência $^{83}\text{Kr}^+$ mostrou-se como uma boa alternativa para correção das interferências espectrais sobre o sinal m/z 75.

A utilização do multinebulizador *Flow-Blurring*[®] possibilitou a melhoria na sensibilidade na determinação de iodo por ICP OES pela geração de espécies voláteis (I_2 e HI). A sensibilidade foi duplicada comparando-se o desempenho do multinebulizador com um sistema de nebulização convencional (*Micromist*[®]).

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 www.abef.com.br – ABEF – Associação dos Produtores e Exportadores de Frango, acessado em 19/11/2012.
- 2 HILLEMANN, B. “Arsenic in chicken production”. *Chem. Eng.*; **85**: 34, 2007.
- 3 DIONÍSIO, A.G.G.; GONZALEZ, M.H.; NÓBREGA, J.A. “Determinação de arsênio em amostras da cadeia produtiva de frangos de corte por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.” *Quim. Nova*; **34**: 49, 2011.
- 4 BATISTA, E.F.; PESSOA, A.G.G.; GUERRA, M.B.B.; MIRANDA, K.; PEREIRA-FILHO, E.R. Fast Sequential Determination of As and Sb, Bi and Pb by Continuous Flow Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. *Food Anal. Methods* (in press).
- 5 KATZ, S.A.; SALEM, H. "Chemistry and toxicology of building timbers pressure-treated with chromated copper arsenate: a review". *J. Appl. Toxicol.*; **25** (1): 1, 2005.
- 6 AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M. Metais: gerenciamento da toxicidade. Editora Atheneu, São Paulo, 2003.
- 7 BARRA, C.M.; SANTELLI, R.E.; ABRÃO, J.J.; DE LA GUARDIA, M. "Arsenic speciation - A review". *Quim. Nova*; **23** (1): 58, 2000.
- 8 DAKEISHI, M.; MURATA, K. & GRANDJEAN, P. “Long-term consequences of arsenic poisoning during infancy due to contaminated milk powder “*Environ. Health*; **5** (31):1, 2006.
- 9 MOULIS, J.M.; MARTELLI, A.; ROUSSELET, E.; DYCKE, C.; BOURON, A. “Cadmium toxicity in animal cells by interference with essential metals”. *Biochimie*; **88** :1807, 2006.
- 10 EMSLEY, J. “Nature’s Building Blocks – An A-Z Guide to the Elements”. New York, Oxford, 2001.
- 11 OKADA, I.A.; SAKUMA, A.M.; MAIO, F.D.; DOVIDAUSKAS, S.; ZENEON, O. Evaluation of lead and cadmium levels in milk due to environmental contamination in the Paraíba Valley region of Southeastern Brazil. *J. Public Health*; **31**: 140, 1997.
- 12 CARDOSO, L. M. N. & CHASIN, A. A. M. Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos. Salvador, Centro de Recursos Ambientais (CRA), 2001.
- 13 DA-COL, J.; DOMENE, S. M. A.; PEREIRA FILHO, E. R. Fast Determination of Cd, Fe, Pb, and Zn in Food using AAS. *Food Anal. Methods*; **2**: 110 2009.

- 14 MAVROPOULOS, ELENA. “A hidroxiapatita como absorvedor de metais”. Escola Nacional de Saúde Pública - FIOCRUZ, 1999. Dissertação de Mestrado.
- 15 PAOLIELLO, M. M. B. & CHASIN, A. A. M. Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos. Salvador, Centro de Recursos Ambientais (CRA), 2001.
- 16 ANDERSON, R. A.; Chromium as an Essential Nutrient for Humans. *Regul. Tox. Pharm.*; **26**: 35,1997.
- 17 U.S. Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for Chromium, Atlanta, September 2000.
- 18 COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de nutrientes. Barueri: Manole, 2005.
- 19 FROES, R.E.S.; BARROS NETO, W.; NAVEIRA, R.L.P.; SILVA, N.C.; NASCENTES, C.C.; SILVA, J.B.B. “Exploratory analysis and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) applied in the determination of metals in soft drinks. *Microchem. J.*; **92**: 68, 2009.
- 20 NDUNGU’U, K.; HIBDON, S.; FLEGAL, A.R. “ Determination of lead in vinegar by ICP-MS and GFAAS: evaluation of different sample preparation procedures”. *Talanta*. **64**: 258, 2004.
- 21 JUNIOR-BARBOSA, F.; NARDI, E.P.; EVANGELISTA, F.S.; TROMEN, L.; SAINT-PIERRE, T.D.; CURTIUS, A.J.; SOUZA, S.S. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. *Food Chem.*; **112**:727,2009.
- 22 RUBIO-MORALES, A.; EL-HADRI, F.; de la GUARDIA, M. “ Determination of total arsenic in soft drinks by hydride generation atomic fluorescence spectrometry”. *Food Chem.*; **105**: 1195, 2007.
- 23 LAMPUGNANI, L.; KARADJOVA, I.B.; ONOR, M.; D’ULIVO A.; TSALEV, D.L. “Continuous flow hydride generation-atomic fluorescence spectrometric determination and speciation of arsenic in wine”. *Spectrochim. Acta Part B*; **60**: 816, 2005.
- 24 KAZI, T.G.; SHAH, A.Q.; ARAIN, M.B.; JAMALI, M.K.; AFRIDI, H.I.; JALBANI, N.; KANDHRO, G.B.; BAIG, J.A.; SARFRAZ, R.A.; ANSARI, R. “ Comparison of the electrothermal and hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of total arsenic in broiler chicken”. *Food Chem.*; **113**: 1351, 2009.

- 25 LIANG, P.; CAO, J.; LIU, R. “ Determination of trace lead in water samples by continuous flow microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry”. *J. Hazard. Mater.*; 152: 910, 2008.
- 26 BORGES, D.L.G.; MARANHÃO, T.A.; VEIGA, M.A.M.S.; CURTIUS, A.J.” Cloud point extraction for the determination of cadmium and lead in biological samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry”. *Spectrochim. Acta Part B*; **60**: 667, 2005.
- 27 ALEIXO, P.C.; “Determinação Direta de Fe e Se em leite por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2000. Dissertação de Mestrado.
- 28 <http://media.iupac.org/publications/pac/2000> - acessado em 01/04/2010.
- 29 MICHALKE, B. “Element speciation definitions, analytical methodology, and some examples”. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*; 56: 122, 2003.
- 30 BETTMER, J. Elemental speciation. *Anal. Bioanal. Chem.*; **372**: 33, 2002.
- 31 CARUSO, J.A. & MONTES-BAYON, M. Elemental speciation studies – new directions for trace metal analysis. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*; 56: 148, 2003.
- 32 CÁMARA, C. Sample preparation for speciation. *Anal. Bioanal. Chem.*; **381**: 277, 2005.
- 33 KRUG, F. J., Ed., Métodos de preparo de amostras, fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª ed., Piracicaba, 2008.
- 34 MCKELVIE, I. D.; SHABANI, A. M. H.; ELLIS, P. S. Spectrophotometric determination of iodate in iodised salt by flow injection analysis. *Food Chem.*; **129**: 704, 2011.
- 35 GÓNZALEZ-IGLESIAS, H.; DE LA FLOR ST REMY, R.R.; LÓPEZ-SASTRE, J. FERNÁNDEZ-COLOMER, B.; IBÁÑEZ-FERNÁNDEZ, A.; SOLÍS, G.; SANZ-MEDEL, A.; FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, M.L. Efficiency of iodine supplementation, as potassium iodide, during lactation: A study in neonates and their mothers. *Food Chem.*; **133**: 859, 2012.
- 36 NIEDOBOVÁ, E.; MACHÁT, J.; OTRUBA, V.; KANICKÝ, E. Vapour generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry in determination of total iodine in milk. *J. Anal. At. Spectrom.*; **20**: 945, 2005.
- 37 ARRUDA, M. A. Z., Ed., Trends in Sample Preparation. Nova

- Science Publishers, New York, 2007.
- 38 WU, S.L., FENG, X.B., WITTMEIER, A. Microwave digestion of plant and grain reference materials in nitric acid or a mixture of nitric acid and hydrogen peroxide for the determination of multi-elements by inductively coupled mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*; **12**: 797,1997.
 - 39 ARAÚJO, G.C.L., GONZALEZ, M.H., FERREIRA, A.G., NOGUEIRA, A.R.A & NÓBREGA, J.A. Effect of acid concentration on closed vessel microwave-assisted acid digestion of plant materials. *Spectrochim. Acta B*; **57**: 2121, 2002.
 - 40 GONZALEZ, M. H.; SOUZA, G. B.; OLIVEIRA, R. V.; FORATO, L. A.; NOBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. *Talanta*, **79**: 396, 2009.
 - 41 NARDI, E.P.; EVANGELISTA, F.S.; TORMEN, L.; SAINT PIERRE, T.D.; CURTIUS, A. J.; SOUZA, S.; BARBOSA Jr. F. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. *Food Chem.*; **112**: 727, 2009.
 - 42 NÓBREGA, J.A.; PIROLA, C.; FIALHO, L.L.; ROTA, G.; DE CAMPOS JORDÃO, C.E.K.M.A.; POLLO, F. Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become? *Talanta*; **98**: 272, 2012.
 - 43 CASTRO, J.T.; SANTOS, E.C.; SANTOS, W.P.C.; COSTA, L.M.; KORN, M.; NÓBREGA, J.A.; KORN, M.G.A. A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Talanta*; **78**: 1378, 2009.
 - 44 BIZZI, C.A.; FLORES, E. M.M., PICOLOTO, R.S.; BARIN, J.S.; NÓBREGA, J.A. Microwave-assisted digestion in closed vessels: effect of pressurization with oxygen on digestion process with diluted nitric acid. *Anal. Methods*; **2**: 734, 2010.
 - 45 MATUSIEWICZ, H.; STANISZ, E. Evaluation of high pressure oxygen microwave-assisted wet decomposition for the determination of mercury by CVAAS utilizing UV-induced reduction. *Microchem. J.*; **95**: 268, 2010.
 - 46 BIZZI, C.A.; BARIN, J.S.; MÜLLER, E.I.; SCHMIDT, L.; NÓBREGA, J.A.; FLORES, E.M.M. Evaluation of oxygen pressurized microwave-assisted digestion of botanical

- materials using diluted nitric acid. *Talanta*; **83**: 1324, 2011.
- 47 BIZZI, C.A.; BARIN, J.S.; GARCIA, E.E.; NÓBREGA, J.A.; DRESSLER, V.L.; FLORES, E.M.M. Improvement of microwave-assisted digestion of milk powder with diluted nitric acid using oxygen as auxiliary reagent. *Spectrochim. Acta Part B*; **66**: 394, 2011.
- 48 THOMAS R. Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners – Part XII - A Review of Interferences. *Spectroscopy*, **24**: 17. 2002.
- 49 MONTASER, A. Inductively Coupled plasma Mass Spectrometry. Wiley-VCH, Nova Iorque, 1998.
- 50 WANG, X & KALINITCHENKO, I. “Principles and performance of the Collision Reaction Interface for the Varian 820-MS”. Advantage Note 1, Varian-Inc, 2005.
- 51 ELLIOTT, S.; KALINITCHENKO, I. & HOSS, H. “Innovative High Sensitivity 90-degree Reflecting ICP-MS Ion Optics for Routine Sample Analysis”. Advantage Note 2, Varian Inc, 2005.
- 52 PEREIRA, C.D.; GARCIA, E.E.; SILVA, F.V.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Behaviour of arsenic and selenium in an ICP-MS with collision and reaction interface. *J. Anal. At. Spectrom.*; **25**: 1763, 2010.
- 53 M. KOVACEVI, M.; GOESSLER, W. Direct introduction of volatile carbon compounds into the spray chamber of an inductively coupled plasma mass spectrometer: Sensitivity enhancement for selenium. *Spectrochim. Acta, Part B.*; **60**: 1357, 2005.
- 54 BEAUCHEMIN, D.; XING, L. Chromium speciation at trace level in potable water using hyphenated ion exchange chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry with collision/reaction interface. *J. Anal. At. Spectrom.*; **25**: 1046, 2010.
- 55 FIALHO, L. L.; PEREIRA, C. D.; NÓBREGA, J. A. Combination of cool plasma and collision-reaction interface for correction of polyatomic interferences on copper signals in inductively coupled plasma quadrupole mass spectrometry. *Spectrochim Acta Part B*; **66**: 389, 2011.
- 56 SHAH, A. Q.; KAZI, T. G.; ARAIN, M. B.; JAMALI, M.K.; AFRIDI, H. I.; JALBANI, N.; KANDHRO, G.A.; BAIG, J.A.; SARFRAZ, R. A. & ANSARI, R. “Comparison of electrothermal and hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of total arsenic in broiler chicken”. *Food Chem.*; **113**: 1351, 2009.

- 57 BOHRER, D.; BECKER, E.; DO NASCIMENTO, P.C.; DESSUY, M.; CARVALHO, L.M. Comparison of graphite furnace and hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of selenium status in chicken meat. *Food Chem.*; **104**: 868, 2007.
- 58 <http://www.saude.pr.gov> , acessado em 20/11/2010.
- 59 HELSEN, L.; VAN DEN BULCK, E. Review of disposal technologies for chromated copper arsenate (CCA) treated wood waste, with detailed analyses of thermochemical conversion processes. *Environ. Pollut.*; **134**: 301, 2005.
- 60 OLIVEIRA, M.C.; ALMEIDA, C.V.; ANDRADE, D.O.; RODRIGUES, S.M.M. Teor de matéria seca, pH e amônia volatilizada da cama de frango tratada ou com diferentes aditivos. *R. Bras. Zootec.*; **32**: 951, 2003.
- 61 <http://www1.folha.uol.com.br/cotidiano/ribeiraopreto/1116811-infestacao-de-moscas-gera-perdas-a-pecuaristas-do-interior-de-sp.shtml> acessado em 15/01/13.
- 62 DA COSTA, D.P.S. “Aproveitamento de vísceras (não comestíveis) de aves para elaboração de farinha de carne: um perfil comparativo entre frango (*Gallus domesticus*) e ratitas avestruz (*Struthio camellus*) e ema (*Rhea americana*)”. São José do Rio Preto, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências do Alimento. UNESP, 2007. Dissertação de Mestrado.
- 63 GÓMEZ, V., CALLAO, M.P. Chromium determination and speciation since 2000. *Trends Anal. Chem.*; **25**: 10, 2006.
- 64 BARNHART, J. Occurrences, uses, and properties of chromium. *Regul. Tox. Pharm.*; **26**, S3–S7, 1997.
- 65 PYRZYNSKA, K. Redox speciation of chromium using sorption-based systems. *Trends Anal. Chem.*; **32**: 100, 2012.
- 66 UNCETA, N.; SÉBY, F.; MALHERBE, J.; DONARD, O. F. X. Chromium speciation in solid matrices and regulation: a review. *Anal Bioanal Chem.*; **397**: 1097, 2010.
- 67 PANICHEV, N.; MANDIWANA T, K.; KATAEVA M.; SIEBERT S. Determination of Cr(VI) in plants by electrothermal atomic absorption spectrometry after leaching with sodium carbonate. *Spectrochim. Acta Part B*; **60**: 699, 2005.
- 68 MATOS, W. O.; NÓBREGA, J. A.; SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A. Especificação redox de cromo em solo acidentalmente contaminado com solução sulfocrômica. *Quim. Nova*; **31**: 1450, 2008.
- 69 MATOS, W. O.; NÓBREGA, J. A. Especificação de cromo em

- cimentos e derivados de cimentos brasileiros. *Quim. Nova*; **32**: 2094, 2009.
- 70 SOARES, M. E.; VIEIRA, E.; BASTOS M. L. Chromium speciation analysis in bread samples. *J. Agric. Food Chem.*; **58**: 1366, 2010.
- 71 ELCI, L.; DIVRIKLI, U.; AKDOGAN, A.; HOL, A.; CETIN, A.; SOYLAK, M. Selective extraction of chromium (VI) using a leaching procedure with sodium carbonate from some plants leaves, soil and sediments samples. *J. Hazard. Mater.*; **173**: 778, 2010.
- 74 KRUSHEVSKA, A., LÁSZTITY, A., KOTREBAI M., BARNES, R.M. Addition of tertiary amines in the semi-quantitative, multi-element inductively coupled plasma mass spectrometric analysis of biological materials. *J. Anal. At. Spectrom.*; **11**: 343, 1996.
- 75 GENG, W.; KOMINE, R.; OHTA, T.; NAKAJIMA, T.; TAKANASHI, H.; OHKI, A. Arsenic speciation in marine product samples: Comparison of extraction–HPLC method and digestion–cryogenic trap method. *Talanta*; **79**: 369, 2009.
- 76 GÓMEZ-ARIZA, J.L.; SÁNCHEZ-RODAS, D.; GIRÁLDEZ, I.; MORALES, E. A comparison between ICP-MS and AFS detection for arsenic speciation in environmental samples. *Talanta*; **51**: 257, 2000.
- 77 PARDO-MARTÍNEZ, M.; VIÑAS, P.; FISHER, A.; HILL, S.J. Comparison of enzymatic extraction procedures for use with directly coupled high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry for the speciation of arsenic in baby foods. *Anal. Chim. Acta*; **441**: 29, 2001.
- 78 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, 2003.
- 79 COELHO, N.M.M.; COELHO, L.M.; DE LIMA, E.S.; PASTOR, A.; DE LA GUARDIA, M. Determination of arsenic compounds in beverages by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta*; **66**: 818, 2005.
- 80 MOREIRA, C.M.; DUARTE, F.A.; LEBHERZ, J.; POZEBON, D.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Arsenic speciation in white wine by LC-ICP-MS. *Food Chem.*; **126**: 1406, 2011.
- 81 HUANG, J.H.; ILGEN, G.; FECHER, P. Quantitative

- extraction for arsenic speciation in rice grains. *J. Anal. At. Spectrom.*; **25**: 800, 2010.
- 82 BATISTA, B.L.; SOUZA, J.M.O.; DE SOUZA, S.S.; BARBOSA JR, F. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. *J. Hazard. Mater.*; **191**: 342, 2011.
- 83 DE MORAES, D.P. “Análise de especiação de arsênio por HG AAS com aprisionamento criogênico e uso de multiatomizador”. Santa Maria, Programa de Pós-Graduação em Química. UFSM, 2010, Tese de Doutorado.
- 84 NAM, S. H.; OH, H. J.; MIN, H. S.; LEE, J. H. A study on the extraction and quantitation of total arsenic and arsenic species in seafood by HPLC-ICP-MS. *Microchem. J.*; **95**: 20, 2010.
- 85 DONATI, G.L.; AMAIS, R.S.; NÓBREGA, J.A. Interference standard: a new approach to minimizing spectral interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*; **26**: 1827, 2011.
- 86 GRINBERG, P.; STURGEON, R.E. Photochemical vapor generation of iodine for detection by ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.*; **24**: 508, 2009.
- 87 OLIVEIRA, A.A.; NÓBREGA, J.A.; PEREIRA-FILHO, E.R.; TREVIZAN, L.C. Avaliação de ICP OES com configuração axial ou radial para determinação de iodo em sal de cozinha. *Quim. Nova*; **35**: 1299, 2012.
- 88 TAGAMI, K.; UCHIDA, S.; HIRAI, I.; TSUKADA, H.; TAKEDA, H. Determination of chlorine, bromine and iodine in plant samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry after leaching with tetramethyl ammonium hydroxide under a mild temperature condition. *Anal. Chim. Acta*; **570**: 88, 2006.
- 89 REID, H. J.; BASHAMMAKH, A. A.; GOODALL, P. S.; LANDON, M. R.; O’CONNOR, C.; SHARP, B.L. Determination of iodine and molybdenum in milk by quadrupole ICP-MS. *Talanta*; **75**: 189-197, 2008.
- 90 R. THOMAS. Practical guide to ICP-MS : A tutorial for beginners. 2a ed, CRC Press, Boca Raton, 2008.
- 91 HAMIER J.; SALIN E. Tandem calibration methodology: dual nebulizer sample introduction for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*; **13**: 497, 1998.
- 92 AGUIRRE, M. A.; KOVACHEV N.; ALMAGRO B.; HIDALGO M.; CANALS, A. Compensation for matrix effects on ICP-OES by tandem calibration methodologies using a new

- multinebulizer based on Flow Blurring technology. *J. Anal. At. Spectrom.*, **25** : 1724, 2010.
- 93 OLIVEIRA, A.A.; TREVIZAN, L.C.; NÓBREGA, J.A. REVIEW: Iodine determination by inductively coupled plasma spectrometry. *Appl. Spectrosc. Rev.*; **45**:447, 2010.
- 94 VTORUSHINA, E.A.; SAPRYKIN, A.I.; KNAPP, G. Optimization of the conditions of oxidation vapor generation for determining chlorine, bromine, and iodine in aqueous solutions by inductively coupled plasma atomic-emission spectrometry. *J. Anal. Chem.*; **63**: 643, 2008.
- 95 VTORUSHINA, E.A.; SAPRYKIN, A.I.; KNAPP, G. Use of Oxidation and reduction vapor generation for lowering the detection limits of iodine in biological samples by inductively coupled plasma atomic-emission spectrometry. *J. Anal. Chem.*; **64**: 129, 2009.
- 96 POHL, P. "Hydride generation – recent advances in atomic emission spectrometry". *Trends Anal. Chem.*, **23**, 87-101, 2004.