

**Mariela Norma Matos Reyes**

**Determinação de elementos traço em alimentos por  
SS-GFAAS e HG AFS**

**Tese de Doutorado**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio.

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Calixto de Campos  
Co-orientador: Prof. Dra. Maria Luisa Cervera

Rio de Janeiro  
Julho de 2007

**Mariela Norma Matos Reyes**

**Determinação de elementos traço em alimentos por  
SS-GFAAS e HG AFS**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC - Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

**Prof. Dr. Reinaldo Calixto de Campos**  
Orientador PUC - Rio

**Prof. Dr. Ralph Edward Sturgeon**  
NRC – INMS/Canadá

**Prof. Dr. Ricardo Santelli**  
Departamento de Geoquímica – UFF

**Profa. Dra. Silvana do Couto Jacob**  
Departamento de Química – Fundação Oswaldo Cruz

**Prof. Dr. Ricardo Queiroz Aucélio**  
Departamento de Química – PUC-Rio

**Prof. Dr. Aderval Severino Luna**  
Departamento de Química – UERJ

**Prof. José Eugenio Leal**  
Coordenador(a) Setorial do Centro Técnico Científico - PUC-Rio

Rio de Janeiro, 10 de julho de 2007

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, da autora e do orientador.

**Mariela Norma Matos Reyes**

Bacharel e Licenciada em Química pela PUCP (Pontifícia Universidad Católica del Perú), Mestre em Química pela PUC-Rio.

Ficha Catalográfica

Matos Reyes, Mariela Norma

Determinação de elementos traço em alimentos por SS-GFAAS e HG AFS / Mariela Norma Matos Reyes ; orientador: Reinaldo Calixto de Campos; co-orientador: Maria Luisa Cervera. – 2007.

110 f. : il. ; 30 cm

Tese (Doutorado em Química)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Óleos vegetais. 3. Cereais. 4. Vegetais. 5. Análise direta. 6. GFAAS. 7. HG AFS. 8. Análise de especiação de arsênio. I. Campos, Reinaldo Calixto de. II. Cervera, Maria Luisa. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. IV. Título.

CDD: 540

*A Deus  
Aos meus pais, Jacinto e Norma, que me deram a vida e a força  
Aos meus irmãos, Doris, Cristina, Ernesto  
Aos meus cunhados Carmen e Víctor  
A Juan Alberto.*

## Agradecimentos

Gostaria de agradecer às pessoas que me ajudaram de maneira direta ou indireta a iniciar e dar continuidade a este trabalho.

Ao Dr. Reinaldo Calixto de Campos, pela orientação, dedicação e apoio.

Ao Dr. Miguel de la Guardia, pela acolhida no laboratório de Química Analítica da Universidade de Valencia, pois na minha estada na Espanha soube incentivar-me com críticas ou brincadeiras a vencer inúmeros desafios no trabalho, pelos conselhos pessoais e pela amizade.

À Dra. Maria Luisa Cervera, pela disponibilidade em todo momento, a orientação, a paciência o aprendizado e por ter sido mãe e amiga nos momentos precisos.

A meus pais, Jacinto e Norma, porque eles foram a minha força para lutar e vencer cada batalha, porque apesar da distância sempre estiveram comigo em espírito em todos os momentos, especialmente nos mais difíceis. Foi muito difícil estar tão longe deles, mas, sei que para eles foi muito mais. Obrigada papai e mamãe, porque apesar da tristeza que existia em vossos corações sempre se mostraram felizes perante a mim. Vocês merecem mais do que um parágrafo, mais do que uma tese completa, porém nada seria suficiente.

À Doris, Cristina, Ernesto, Carmen, Victor, Melanie por terem sempre torcido por mim assim como ao novo membro da família, Gabriel, que veio ao mundo o ano passado.

A Juan Alberto, quien también estuvo presente en los momentos más importantes de este proceso. Gracias por el inmenso cariño, el apoyo incondicional, la paciencia, tu comprensión. A pesar de la distancia siempre estuviste presente cuando más te necesité.

À Maria Luiza, minha mãe brasileira, pelo grande amor que me ofereceu durante todo este tempo de convívio, pelos conselhos, a compreensão e o grande amor.

Obrigada por ter me acolhido como uma filha, você também foi minha orientadora, mas do doutorado de vida que fiz no Brasil, sem você meus dias teriam sido com certeza menos agradáveis.

A Cristina e Melisa, minhas duas grandes amigas, pela compreensão e amizade, mesmo de longe sempre presentes na minha vida.

A meus amigos e colegas da PUC-Rio, Anilton e Cláudio, pela amizade e agradáveis momentos compartilhados e por ter ficado do meu lado quando mais precisei sobre tudo na parte final deste trabalho.

A meus amigos e colegas do grupo “Solinqui” da Universidad de Valencia, Eva, Marlen, Emilie, Markus, Mael, André, Milton, e a todos os amigos que fiz durante minha estada na Universidad de Valencia.

Ao pessoal do laboratório de absorção atômica da PUC-Rio.

Aos professores da banca pela paciência na revisão e pela grande contribuição ao meu trabalho através de suas sugestões.

Ao Programa Alβan, Uiversidad de Valencia, CNPq e à PUC-Rio, pelo apoio financeiro.

A todos que não foram mencionados e que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, muito obrigada.

## Resumo

Matos Reyes Mariela Norma. **Determinação de elementos traço em alimentos por SS-GFAAS e HG AFS**. Rio de Janeiro, 2007. 110p. Tese de Doutorado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

A qualidade de produtos alimentícios tem recebido especial atenção devido a sua importância na nutrição e saúde humanas. Neste sentido, a determinação de metais traço em alimentos tem se convertido em importante campo na análise de alimentos. Em relação aos óleos vegetais, a sua composição em termos de metais traço é um critério relevante para a avaliação da qualidade, uma vez que se sabe que estes metais afetam a sua taxa de oxidação, influenciando as suas características e no seu armazenamento. Por outro lado, cereais e outros alimentos de origem vegetal são especialmente relevantes na alimentação humana, uma vez que são a base da dieta de muitas populações do mundo. No presente trabalho, foi desenvolvido um método analítico para determinação direta de Cu e Ni em óleos vegetais por Espectrometria de Absorção Atômica no Forno de Grafite (GFAAS): as amostras foram pesadas diretamente em uma plataforma de grafite e introduzidas no atomizador, com o auxílio de um acessório de amostragem de sólidos. O programa de temperatura otimizado permitiu o uso de soluções de calibração aquosas. A exatidão do procedimento foi confirmada pela boa concordância entre os resultados obtidos pelo procedimento proposto e por procedimentos comparativos. Os limites de detecção foram de 0,001 e 0,002  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Cu e Ni, respectivamente, nas amostras originais. Em continuação, empregou-se a técnica de fluorescência atômica para a determinação do conteúdo total de As, Sb, Se, Te e Bi em amostras vegetais, de cereais e legumes, após calcinação por via seca. Foram otimizados os parâmetros relativos a geração dos hidretos, assim como os parâmetros de fluorescência. Testes de adição de analito, assim como a análise de materiais certificados de referência, garantiram a exatidão do procedimento. Os resultados encontrados mostraram que as amostras estudadas encontraram-se todas, nos limites preconizados pela legislação europeia. Finalmente, uma metodologia analítica não cromatográfica, rápida, sensível e simples foi desenvolvida para a quantificação de espécies tóxicas de arsênio em arroz, sêmola, acelga e berinjela. Estas espécies foram extraídas com  $\text{H}_3\text{PO}_4$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  + Triton XT-114 0,1%, assistida por ultra-som, seguindo-se a lavagem com EDTA 0,1% (m/v). As espécies As(III), As(V), DMA e MMA foram quantificadas

no extrato por espectrometria de fluorescência atômica por geração de hidretos utilizando um sistema de equações proporcionais, que correspondem a quatro condições experimentais diferentes. Os valores de limite de detecção do método foram 1,3 (3,15); 0,9 (2,97); 1,5 (0,46) e 0,6 (0,37) ng g<sup>-1</sup> para As(III), As(V), DMA e MMA, respectivamente, nas amostras de cereais e vegetais, expressos em termos do peso seco da amostra. Os estudos da recuperação mostraram porcentagens maiores que 90% para as quatro espécies consideradas. A análise de especiação de um material de referência de farinha de arroz certificado para arsênio total mostrou resultados coerentes e concordantes com outros estudos com ele realizados.

### **Palavras-chave**

Óleos vegetais, cereais, vegetais, As, Bi, Cu, Ni, Sb, Se, Te, análise direta, GFAAS, HG AFS, análise de especiação de arsênio.



## Abstract

Matos Reyes Mariela Norma. **Trace elements determination in foods by SS-GFAAS and HG AFS**. Rio de Janeiro, 2007. 110p. Tese de Doutorado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

The quality of food products has received a special attention due to its influence in the human health and nutrition. Thus, trace metal determination in foods has turned an important field in food analysis. Concerning vegetal oils, its metal trace metal composition is a criterion for the assessment of their quality since it is known that these metals affect their rate of oxidation, influencing its characteristics and storage management. As part of the present work the direct determination of Cu and Ni in vegetal oils by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS), using the solid sampling strategy was developed: The samples were weighed on a graphite platform boat and inserted in the graphite tube. An adequate temperature program allowed the calibration by external aqueous calibration curves. A good agreement between the results arisen from the proposed and two comparative procedures (EPA 3031 and EPA 3051) confirmed the accuracy of the proposed procedure. The limits of detection in the original samples were 0.002 and 0.001  $\mu\text{g g}^{-1}$  for Cu and Ni, respectively. A second part of the work has dealt with the determination of the total content of As, Sb, Se, Te and Bi in samples of vegetable, cereals and pulses by HG AFS. The samples were dry ashed by a proper ashing program, and the hydride generation parameters were optimized, as well as those related to the fluorescence emission. Recovery testes and the analysis of certified reference materials testified the accuracy of the procedure. The content of the studied elements in studied samples were all below those of the European regulation. Finally, a fast, sensitive and simple non chromatographic methodology was developed for the speciation analysis of toxic arsenic species in rice, wheat semolina, chard and aubergines samples. Ultrasound assisted extraction of the toxic arsenic species was carried with 1 mol of  $\text{L}^{-1}$   $\text{H}_3\text{PO}_4$  and 0.1% (m/v) Triton XT-114. After the extraction, As(III), As(V), DMA and MMA were quantified by hydride generation atomic fluorescence spectrometry at four different experimental conditions. The fluorescence intensities derived from these four measurements were introduced in a system of four proportional equations, permitting the calculation of the individual species concentration.. The detection limits were 1.3 (3.2), 0.9 (3.0), 1.5 (0.5)) and 0.6 (0,5)  $\text{ng g}^{-1}$  for As(III), As(V),

DMA and MMA, respectively in the cereals and (vegetable) samples, expressed in terms of the dry weight. Recoveries greater than 90% for the four considered species in samples spiked at  $100 \text{ ng g}^{-1}$  level were obtained as well as the assurance of no species interconversion. The speciation analysis of a rice flour reference material certified for total arsenic led to coherent results, which were also in agreement with other speciation studies made on the same CRM.

## **Keywords**

Vegetable oils, cereals, vegetables, As, Bi, Cu, Ni, Sb, Se, Te, direct analysis, GFAAS, HG AFS, arsenic speciation analysis.

# Sumário

1 Introdução.....	19
1.1. Óleos vegetais.....	22
1.1.1. Generalidades.....	22
1.1.2. Presença de metais nos óleos vegetais.....	23
1.2. Alimentos.....	23
1.2.1. Generalidades.....	23
1.2.2. Presença de metais em vegetais.....	24
1.3. Elementos objeto de estudo.....	25
1.3.1. Arsênio.....	25
1.3.2. Antimônio.....	30
1.3.3. Selênio.....	30
1.3.4. Telúrio.....	32
1.3.5. Bismuto.....	33
1.4. Análise por especiação química.....	34
1.5. Especiação de arsênio em alimentos.....	35
1.6. Especiação não cromatográfica.....	37
2 Técnicas de detecção.....	39
2.1. Técnicas de detecção para a determinação de elementos traço em óleos vegetais.....	39
2.2. Espectrometria de absorção atômica no forno de grafite (GF AAS).....	40
2.3. Técnicas de detecção para a determinação de As, Sb, Se, Te e Bi em olerícolas, leguminosas e grãos.....	41
2.4. Espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos (HG AFS).....	42
3 Objetivos.....	51
4 Parte experimental.....	53
4.1. Instrumentação.....	53
4.1.1. Espectrometria de absorção atômica no forno de grafite (GF AAS).....	53
4.1.2. Espectrometria de fluorescência atômica por geração de hidretos (HG	

AFS).....	55
4.1.3. Outros equipamentos.....	58
4.2. Reagentes, soluções e amostras.....	58
4.3. Procedimentos.....	60
4.3.1. Análise direta de amostras de óleo vegetal.....	60
4.3.2. Procedimentos comparativos para a determinação de Cu e Ni em amostras de óleo vegetal.....	63
4.3.2.1. EPA 3051.....	63
4.3.2.2. EPA 3031.....	63
4.3.3. Determinação de As, Sb, Se, Te e Bi em amostras vegetais.....	64
4.3.3.1. Preparação de amostras.....	64
4.3.3.2. Calcinação por via seca.....	64
4.3.4. Análise de especiação: determinação de As(III), As(V), DMA e MMA.....	66
5 Resultados e discussão.....	67
5.1. Determinação de Ni e Cu em amostras de óleos vegetais.....	67
5.1.1. Otimização do programa de temperatura: Temperaturas ótimas de pirólise e atomização.....	67
5.1.2. Calibração.....	70
5.1.3. Análise das amostras, validação e figuras de mérito.....	72
5.2. Determinação de As, Sb, Se, Te e Bi totais em amostras de olerícolas, leguminosas e grãos.....	73
5.2.1. Seleção das concentrações de HCl e NaBH <sub>4</sub> .....	73
5.2.2. Otimização do volume de amostra.....	76
5.2.3. Otimização da bobina de reação.....	79
5.2.4. Estudos de recuperação e exatidão.....	81
5.2.5. Figuras de mérito.....	82
5.2.6. Determinação do conteúdo total de As, Sb, Se, Te e Bi.....	84
5.3. Análise de especiação de arsênio.....	87
5.3.1. Seleção das condições de extração para a determinação de espécies de arsênio.....	87
5.3.2. Estratégia para a determinação de As(III); As(V), DMA e MMA.....	90
5.3.3. Estudos de recuperação.....	92
5.3.4. Exatidão.....	94
5.3.4.1. Interferência da arsenobetaina.....	94
5.3.4.2. Método comparativo.....	95

5.3.4.3. Análise de especiação em materiais de referência.....	95
5.3.5. Figuras de mérito.....	98
6 Conclusões.....	99
7 Referências.....	101
8 Anexos.....	110

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Programas de temperatura para a determinação de Ni e Cu em óleos vegetais.....	61
Tabela 2 - Programa do digestor de microondas DGT 100 Plus.....	63
Tabela 3 - Parâmetros experimentais selecionados para a medição instrumental com o espectrômetro de fluorescência atômica.....	65
Tabela 4 - Condições experimentais para a determinação de As(III), As(V), MMA e DMA nos extratos obtidos por HG AFS.....	66
Tabela 5 - Parâmetros das curvas de calibração aquosa e orgânica para Ni e Cu.....	70
Tabela 6 - Resultados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) provenientes dos procedimentos proposto e comparativos na determinação de Ni e Cu em amostras de óleo de soja (S) e óleo de milho (C) ( $\pm\text{SD}$ ; $n=6$ ).....	73
Tabela 7 - Recuperação (%) para As, Sb, Se, Te e Bi em olerícolas, grãos e leguminosas ( $\text{ng g}^{-1}$ , $\bar{x}$ , $\sigma$ , $n=3$ ).....	81
Tabela 8 - Figuras analíticas de mérito na determinação de As, Sb, Se, Te e Bi em olerícolas, grãos e leguminosas.....	83
Tabela 9 - Teores totais de As, Sb, Se, Te e Bi em olerícolas ( $\text{ng g}^{-1}$ , peso seco; $\bar{x}\pm\sigma$ , $n=3$ ).....	85
Tabela 10 - Teores totais de As, Sb, Se, Te e Bi em leguminosas ( $\text{ng g}^{-1}$ , peso fresco; $\bar{x}\pm\sigma$ , $n=3$ ).....	85
Tabela 11 - Teores totais de As, Sb, Se, Te e Bi em grãos ( $\text{ng g}^{-1}$ , peso seco; $\bar{x}\pm\sigma$ , $n=3$ ).....	86
Tabela 12 - Teores ( $\text{ng g}^{-1}$ ) de arsênio inorgânico (AsIII+AsV) em amostras de acelga, berinjela, arroz e sêmola, após extração com diferentes extratores e determinação por HG AFS.....	88
Tabela 13 - Concentrações de As(III) e As(V), $\text{ng g}^{-1}$ em amostras de acelga e berinjela.....	89
Tabela 14 - Concentrações de As(III) e As(V), $\text{ng g}^{-1}$ em amostras de arroz e sêmola.....	90
Tabela 15 - Determinação de espécies de arsênio tóxico ( $\text{ng g}^{-1}$ , $n=3$ , $\pm\sigma$ ) em amostra de acelga (AC), berinjela (B), sêmola (S) e arroz (A).....	91
Tabela 16 - Estudo de recuperação das espécies de arsênio tóxico ( $\text{ng g}^{-1}$ , $n=3$ , $\pm\sigma$ ) em amostra de acelga (AC), berinjela (B), sêmola (S) e arroz (A).....	93

Tabela 17 - Recuperação (%) para As(III), As(V), DMA e MMA em cada uma das amostras estudadas.....	94
Tabela 18 - Influência da presença de arsenobetaina (100 ng g <sup>-1</sup> ) na determinação de arsênio tóxico por HG AFS (n=3).....	95
Tabela 19 - Análise de especiação de arsênio (ng g <sup>-1</sup> ) nos materiais certificados NIST 1573 (Tomate Leaves) e NIST 1568a (Rice Flour).....	96
Tabela 20 - Análise de especiação de As em material certificado de referencia NIST 1568a (Rice flour) <sup>a</sup> .....	97

## Lista de Figuras

Figura 1 – Tipos de fluorescência.....	45
Figura 2 - Reações redox do sistema $M(V)/KI/\text{ácido ascorbico}$ , sendo $M=As(V)$ ou $Sb(V)$ .....	49
Figura 3 - (a) Amostrador de sólidos acoplado ao Espectrômetro de Absorção Atômica com forno de grafite (b) Plataforma presa no amostrador de sólidos.....	54
Figura 4 - Espectrômetro de Fluorescência Atômica: <b>B1</b> = bomba peristáltica 1; <b>B2</b> = bomba peristáltica 2; <b>L</b> = conexão para reagentes externos, amostra e soluções de reciclagem do branco; <b>C</b> = conexões elétricas para a válvula da amostra; <b>V</b> =válvula da amostra; <b>O</b> = saída do sistema de secagem; <b>I</b> = entrada ao sistema de secagem; <b>D</b> = entrada da amostra para o detector; <b>G</b> = saída do gás carreador; <b>S</b> = separador gás - líquido; <b>R</b> = canal de rejeito.....	56
Figura 5 - Membrana Perma Pure.....	57
Figura 6 - Sistema de detecção do aparelho de fluorescência atômica.....	57
Figura 7 - (a) Amostra pesada diretamente na plataforma; (b) A plataforma presa pelo suporte para ser levada ao tubo de grafite; (c) O suporte ajustado no amostrador de sólidos, voltado para o atomizador de grafite.....	62
Figura 8 - Curvas de pirólise e atomização para Ni em a) óleo de soja; (b) azeite.....	68
Figura 9 - Curvas de pirólise e atomização para Cu em a) óleo de soja; (b) azeite.....	69
Figura 10 - Curvas de calibração para $Ni_{aq}$ (■) e $Ni_{conostan}$ (□).....	71
Figura 11 - Curvas de calibração para $Cu_{aq}$ (■) e $Cu_{conostan}$ (□).....	71
Figura 12. Estudo da influência da concentração de HCl para As (■), Sb (●), Se (▲), Te (▼) e Bi (◆); n=3.....	74
Figura 13 - Estudo da influência da concentração de $NaBH_4$ para As (◆), Sb (■), Se (▲), Te (×) e Bi (*)......	75
Figura 14 - Válvula de seis vias.....	76
Figura 15 - Espectrômetro de Fluorescência Atômica com o sistema de válvula de seis vias para a injeção das amostra.....	77
Figura 16 - Efeito do volume da alça de amostragem para As (□), Sb (■),	



Se (▣), Te (▢) e Bi (■).....78

Figura 17 - Estudo do efeito do comprimento da bobina de reação para As (■), Sb (▲) e Bi (◆). Símbolos cheios, com alça de amostragem de 2 mL; símbolos vazados, bombeamento direto, para ambos todos os casos n=3. ....79

Figura 18 - Estudo do efeito do comprimento da bobina de reação para Se (●) e Te (►). Símbolos cheios, com alça de amostragem de 3 mL; símbolos vazados, bombeamento direto, para ambos todos os casos n=3.....80

## Lista de Abreviaturas

AFS	Espectrometria de fluorescência atômica
As(III)	Arsenito
As(V)	Arsenato
DMA	Ácido dimetilarsínico
EPA	Environmental Protection Agency
GFAAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite
HG AFS	Espectrometria de fluorescência atômica por geração de hidretos
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
ICP-AES	Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado
IC	Cromatografia de troca iônica
LC	Cromatografia líquida
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
M	Inclinação da curva analítica
MMA	Ácido monometilarsínico
n	Número de medições
r	Repetitividade
R	Reprodutibilidade
$\sigma$	Desvio padrão estimado
TMAO	Óxido trimetilarsínico
$\bar{x}$	Média