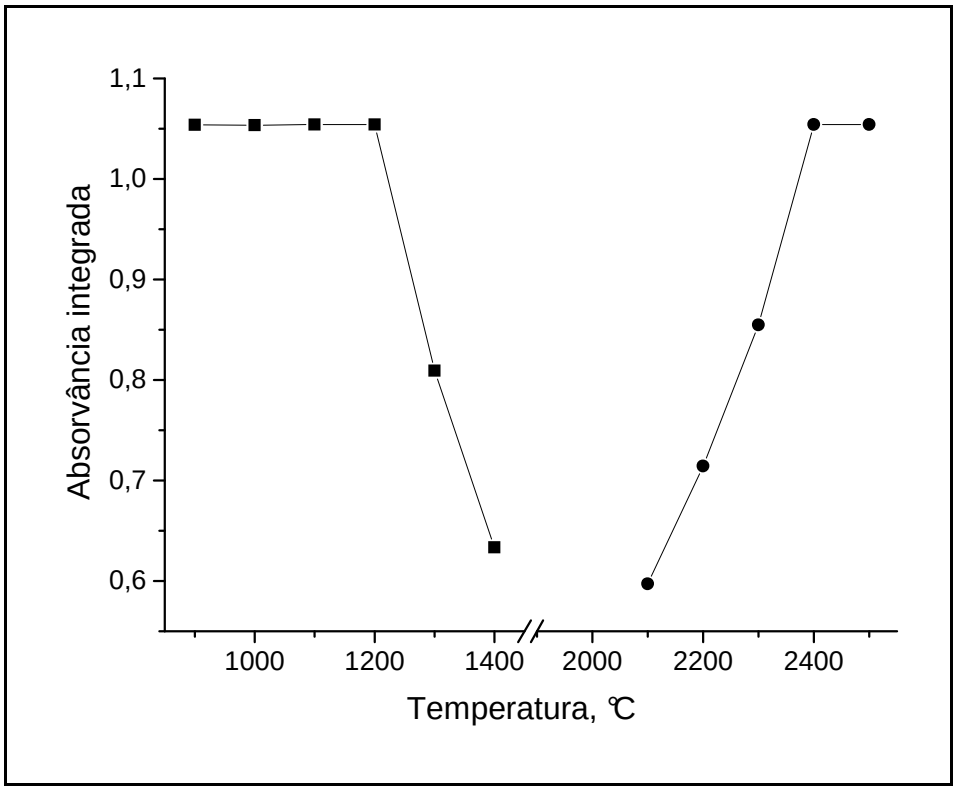
# 5
# RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1.
## Determinação de Ni e Cu em amostras de óleos vegetais

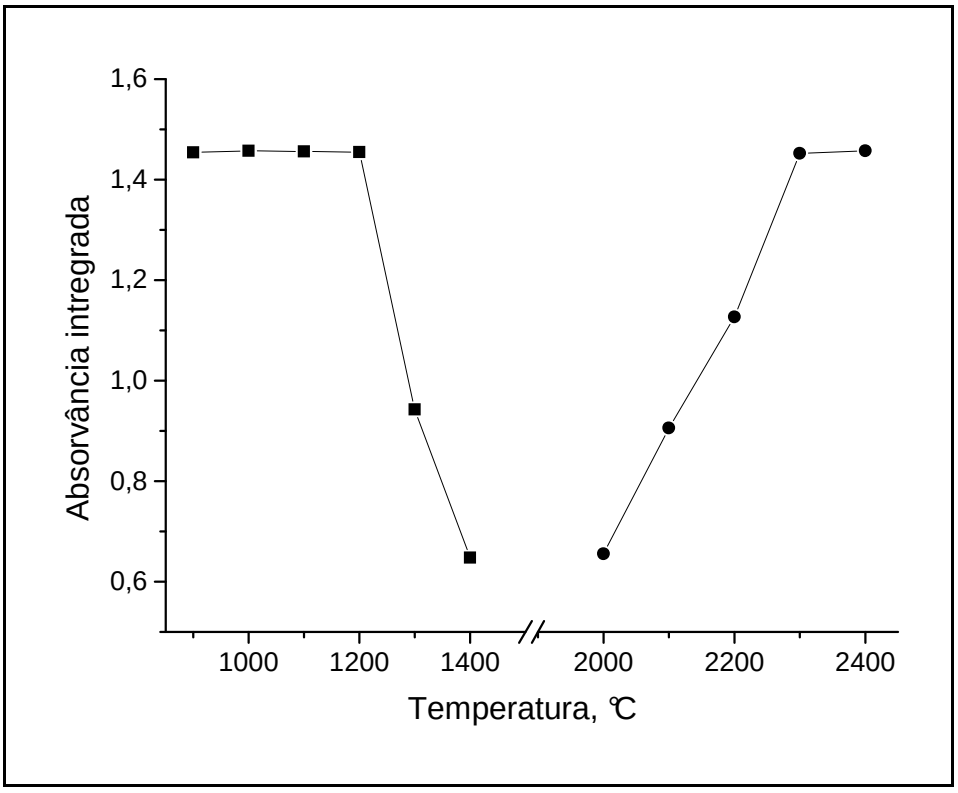
### 5.1.1.
### Otimização do programa de temperatura: Temperaturas ótimas de pirólise e atomização

Os programas da temperatura foram inicialmente baseados em trabalho precedente[2]. Entretanto, as temperaturas de pirólise e atomização foram otimizadas a partir de curvas de temperatura de pirólise e atomização (figuras 8 e 9). As curvas foram obtidas com as amostras reais, introduzidas no forno de grafite utilizando o procedimento descrito anteriormente. Devido a que não é prático pesar-se exatamente sempre a mesma massa de amostra para cada medida, os valores de absorvância obtidos foram normalizados pelas massas respectivas. A tabela 1 apresenta os programas de temperatura otimizados, sendo que os mesmos programas foram usados nos procedimentos de calibração.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA



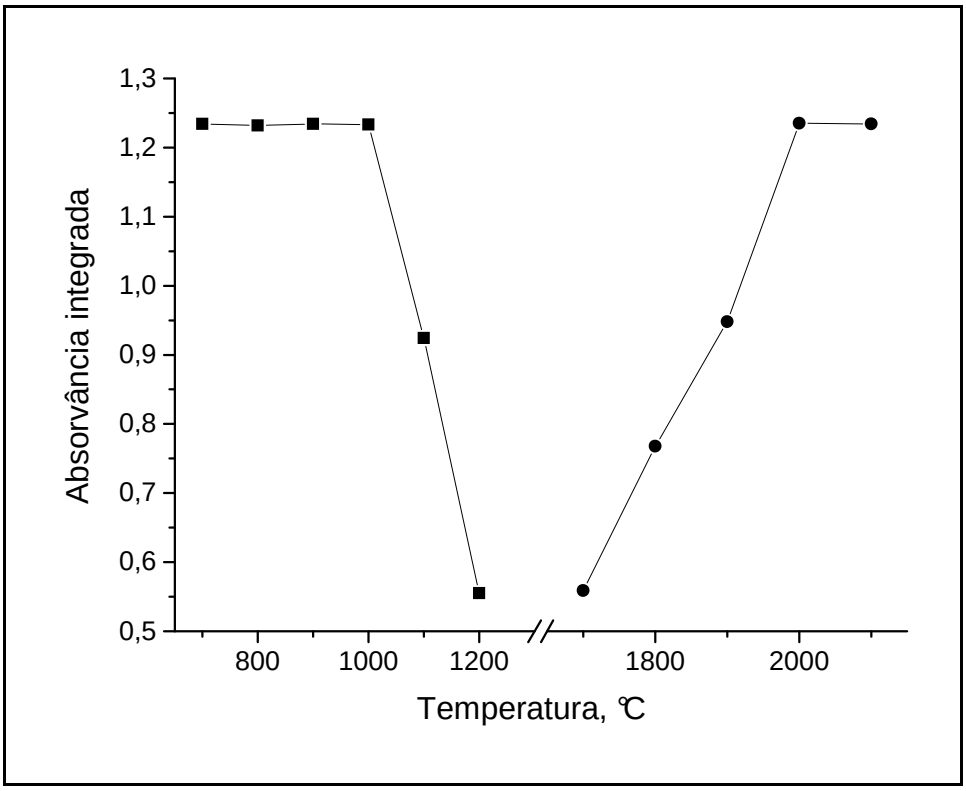

(a)



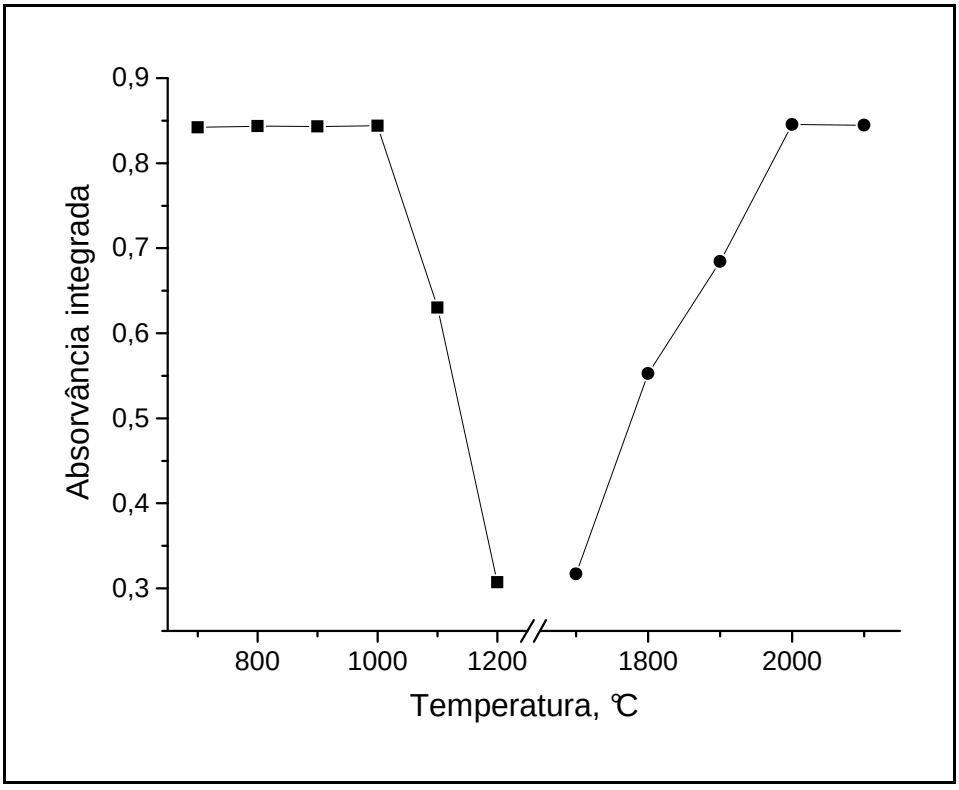

(b)

Figura 8. Curvas de pirólise e atomização para Ni em a) óleo de soja; (b) azeite

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA




(a) Óleo Cu




(b) Azeite Cu

Figura 9. Curvas de pirólise e atomização para Cu em a) óleo de soja; (b) azeite

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

### 5.1.2.
### Calibração

A possibilidade de utilizar a calibração aquosa para a determinação de Ni e Cu nas amostras de óleo vegetal foi avaliada, devido a diferença do tipo de matriz ( aquosa e oleosa). Portanto, curvas de calibração aquosas e orgânicas para Ni e Cu foram construídas utilizando os programas de temperatura já otimizados e o procedimento descrito em 4.3.1, visando avaliar se existia uma diferença significativa entre as inclinações de ambas as curvas (aquosa e orgânica para ambos os analitos). Soluções padrões organometálicas de Ni e Cu foram utilizadas, pesando-se massas crescentes de cada solução padrão de interesse. No caso do Ni, foram pesadas massas de 0,15 – 1 mg de uma solução de 10 $\mu gmL^{-1}$. Já para o Cu foram utilizadas massas de 0,2 – 2 mg de uma solução padrão de 250 $ngmL^{-1}$. Em ambos os casos, observou-se uma boa linearidade entre as inclinações das curvas de calibração, as quais não mostraram diferença significativa (Student t-test, $p< 0,05$), como mostrado na tabela 5 e nas figuras 10 e 11.

Tabela 5. Parâmetros das curvas de calibração aquosa e orgânica para Ni e Cu

| | Ni | | Cu | |
|---|---|---|---|---|
| | Aquosa | Orgânica | Aquosa | Orgânica |
| Inclinação | y= (0,090 ± 0,001) | y= (0,087 ± 0,001) | y= (0,885 ± 0,013) | y= (0,877 ± 0,012) |
| R | 0,9995 | 0,9991 | 0,9991 | 0,9992 |

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

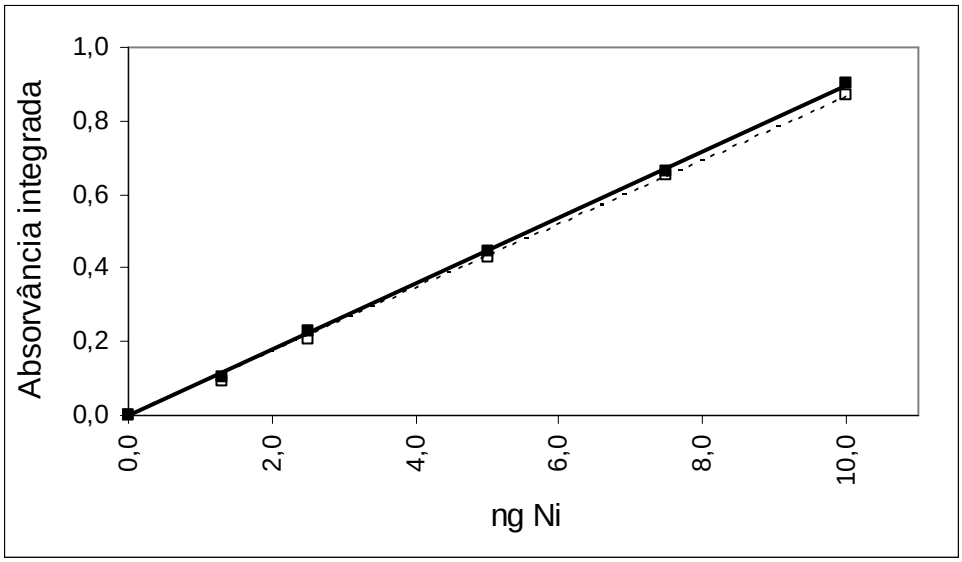



Figura 10. Curvas de calibração para $Ni_{aq}$(■) e $Ni_{conostan}$(□)

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

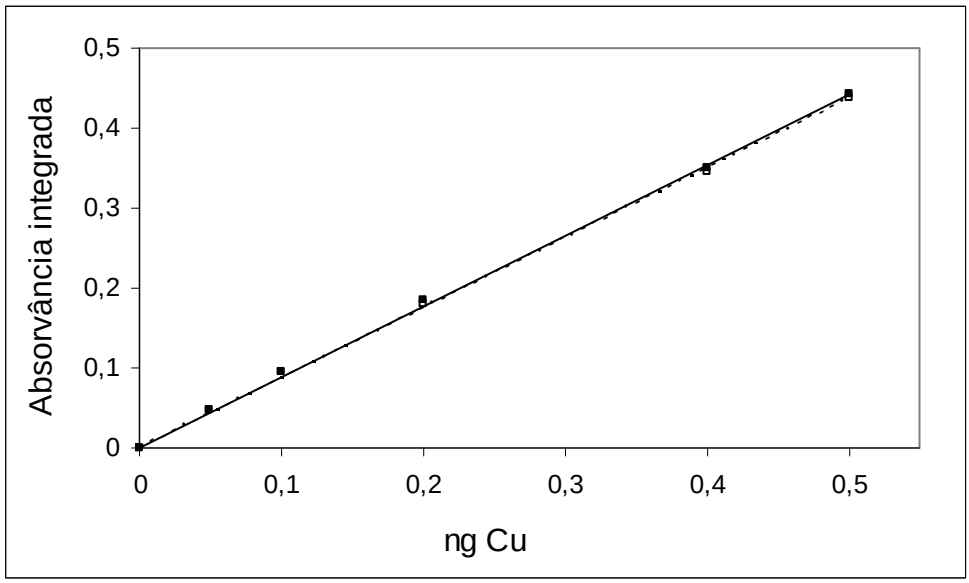



Figura 11. Curvas de calibração para $Cu_{aq}$(■) e $Cu_{conostan}$(□)

### 5.1.3.
### Análise das amostras, validação e figuras de mérito

As amostras foram analisadas como já descrito anteriormente. Devido a que nenhum material de referência certificado adequado para as amostras investigadas estava disponível, a exatidão da metodologia proposta foi avaliada pela análise das mesmas amostras pelo procedimento proposto e por dois outros procedimentos independentes comparativos[124,125]. A tabela 6 mostra os resultados obtidos com o procedimento proposto e os resultados obtidos pelos procedimentos comparativos confirmando a boa concordância obtida entre os métodos, o proposto e os de comparação. É importante destacar que GFAAS foi utilizada como técnica de detecção nos procedimentos comparativos apesar que nos métodos originas FAAS é a técnica utilizada. No entanto, ambos os procedimentos são sugeridos para níveis de concentração maiores do que aqueles encontrados no presente trabalho.

Devido ao fato de que na análise direta não são usados reagentes e consequentemente não há brancos, os limites de detecção foram calculados de acordo com Burdge[136], que leva em consideração a dispersão dos pontos da curva de calibração em torno da função de calibração. Desta maneira, considerando-se uma massa de amostra de 0,5 mg, os limites da detecção encontrados foram 0,001 e 0,002 μg $g^{-1}$ para Cu e Ni, respectivamente, nas amostras originais.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Tabela 6. Resultados (μg $g^{-1}$) provenientes dos procedimentos proposto e comparativos na determinação de Ni e Cu em amostras de óleo de soja (S) e óleo de milho (C) (±SD; n=6)

| Amostra | Ni | | | Cu | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Método proposto | EPA 3031 | EPA 3051 | Método proposto | EPA 3031 | EPA 3051 |
| S1 | 3,17 ± 0,02 | 3,53 ± 0,02 | 3,37 ± 0,04 | 2,82 ± 0,01 | 3,10 ± 0,02 | 3,08 ± 0,05 |
| S2 | 3,26 ± 0,02 | 3,60 ± 0,03 | 3,35 ± 0,02 | 3,63 ± 0,02 | 3,87 ± 0,02 | 3,75 ± 0,03 |
| S3 | 4,42 ± 0,02 | 4,37 ± 0,02 | 4,48 ± 0,04 | 3,02 ± 0,02 | 3,06 ± 0,04 | 3,11 ± 0,06 |
| C1 | 3,92 ± 0,02 | 4,32 ± 0,04 | 4,30 ± 0,03 | 2,96 ± 0,02 | 3,06 ± 0,03 | 2,95 ± 0,03 |
| C2 | 4,53 ± 0,01 | 4,64 ± 0,02 | 4,18 ± 0,03 | 3,63 ± 0,03 | 3,73 ± 0,03 | 3,65 ± 0,04 |
| C3 | 4,12 ± 0,01 | 4,34 ± 0,02 | 4,26 ± 0,06 | 2,63 ± 0,02 | 2,73 ± 0,02 | 2,66 ± 0,03 |

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

## 5.2. Determinação de As, Sb, Se, Te e Bi totais em amostras de olerícolas, leguminosas e grãos

### 5.2.1. Seleção das concentrações de HCl e $NaBH_4$

As concentrações de HCl e $NaBH_4$ têm influência na velocidade e no rendimento da reação de geração dos hidretos; portanto, são os parâmetros mais importantes que incidem sobre a intensidade de fluorescência e, em conseqüência, sobre a sensibilidade. Assim, foram preparados padrões e brancos relativos a diferentes concentrações de HCl, de 2,5 a 6 mol $L^{-1}$, para posterior análise por fluorescência. Na figura 12 apresentam-se os resultados encontrados, devidamente descontados dos respectivos brancos.

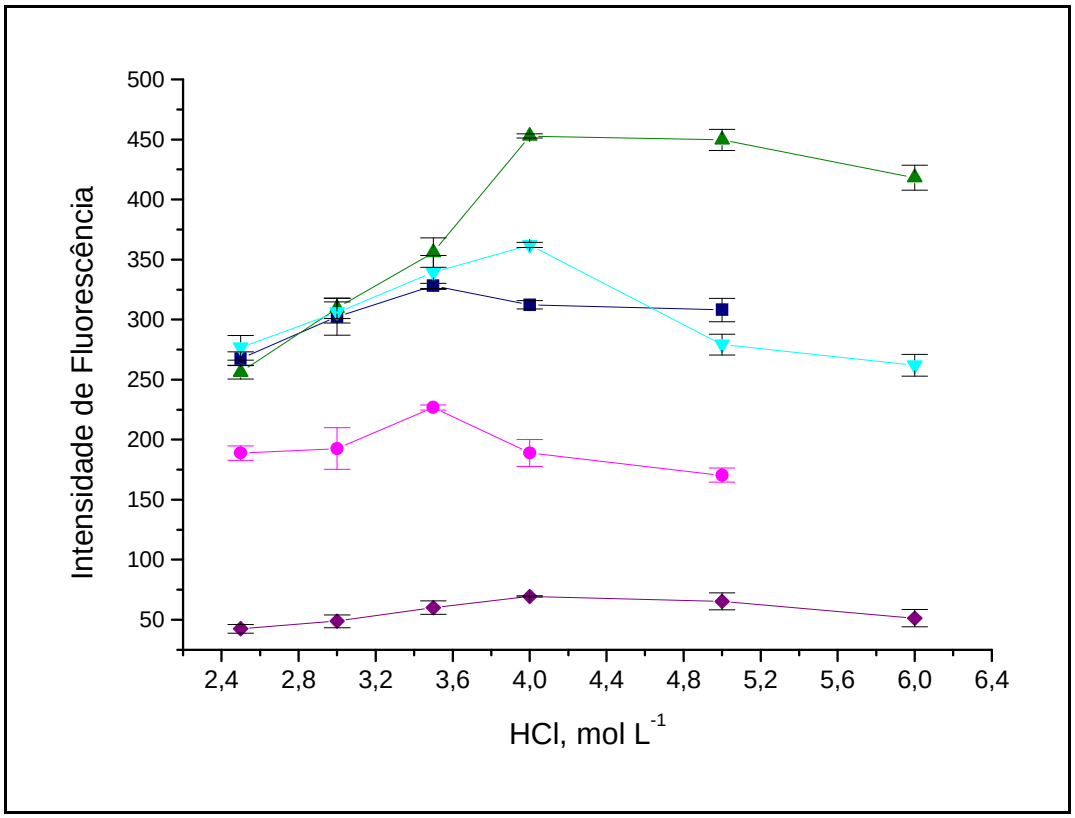



Figura 12. Estudo da influência da concentração de HCl para As (■), Sb (●), Se (▲), Te (▼) e Bi (♦); n=3.

A partir dos resultados obtidos, selecionou-se, para cada elemento, a concentração de HCl que proporcionava a melhor. Para As e Sb, a melhor sensibilidade foi conseguida com uma concentração de 3,5 mol $L^{-1}$ e, para Te e Bi, selecionou-se uma concentração de 4 mol $L^{-1}$. É importante destacar que cada concentração foi selecionada na base da melhor sensibilidade e o menor desvio padrão (n=3). Desta maneira foi possível determinar o As e Bi, assim como o Se, Te e Bi na mesma alíquota de amostra, com o mesmo pré-redutor, economizando amostra e etapas de preparação.

Uma vez selecionada a concentração de HCl, estudou-se a concentração de redutor ($NaBH_4$), na faixa de 0,5 a 1,4% m/v Na figura 13 apresenta-se a variação da intensidade de fluorescência em relação à concentração de redutor.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

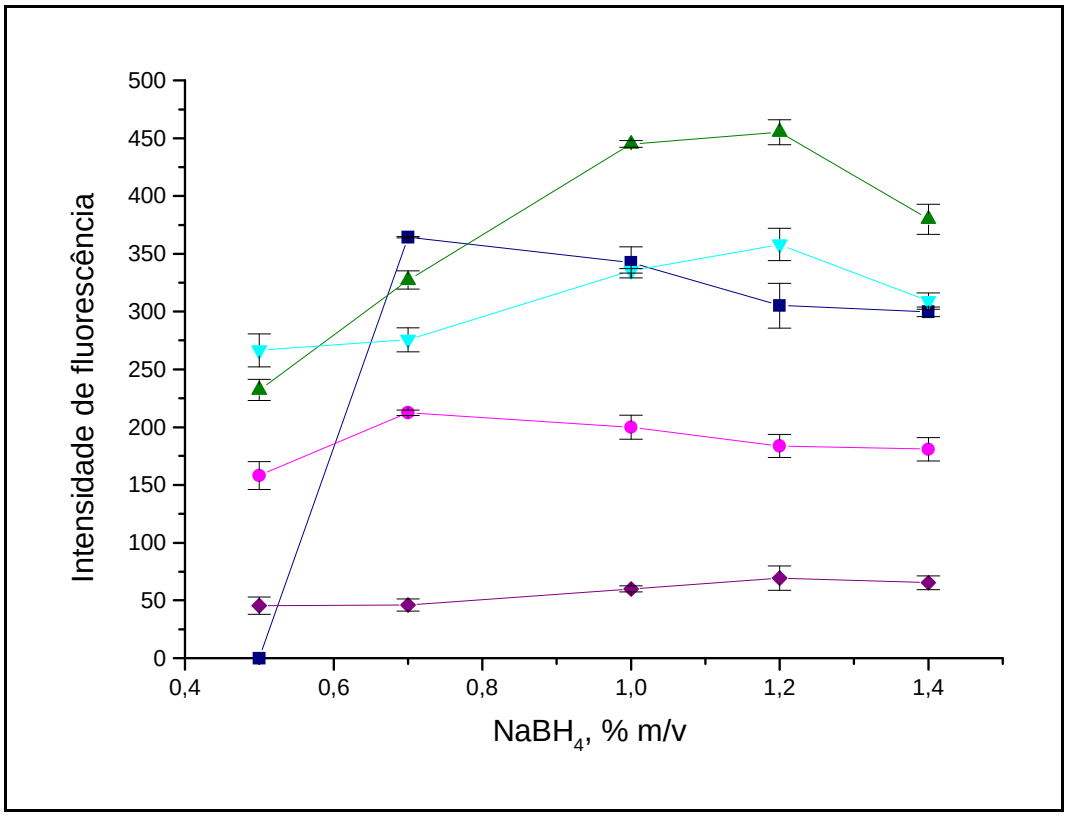



Figura 13. Estudo da influência da concentração de $NaBH_4$ para As (♦), Sb (■), Se (▲), Te (x) e Bi (*).

Como se pode observar na figura 13, para As e Sb, uma concentração de redutor de 0,7% m/v proporcionou a máxima intensidade de fluorescência. No entanto, para Se, Te e Bi, esta máximo só foi alcançado com a concentração de 1,2% m/v. Entretanto, a variação obtida com esta concentração e maior do que a obtida com a concentração de $NaBH_4$ 1,0% m/v, portanto, decidiu-se utilizar esta última com o intuito de poupar reagentes, e preparar apenas uma solução redutora, facilitando assim a análise.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

## 5.2.2.
## Otimização do volume de amostra

O sistema de geração de hidretos do espectrômetro de fluorescência atômica bombeia a amostra a uma vazão de 9 mL $min^{-1}$, precisando de aproximadamente, 35 mL para realizar três medidas de fluorescência. Com o intuito de otimizar o procedimento de determinação, reduzir o tempo de análise, o consumo de regentes assim como a geração de resíduos, avaliou-se a possibilidade de incluir no sistema uma válvula de injeção. Esta válvula permite introduzir no canal da solução carreadora uma alíquota de amostra, no lugar de sua introdução continua. Com a válvula de seis vias, é possível introduzir um volume de amostra correspondente ao da alça de amostragem. Nas figuras 14 e 15 mostram-se o funcionamento da válvula rotatória de seis vias para as duas posições, de carga e de injeção, assim com o acoplamento desta válvula ao espectrômetro de fluorescência atômica utilizado.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

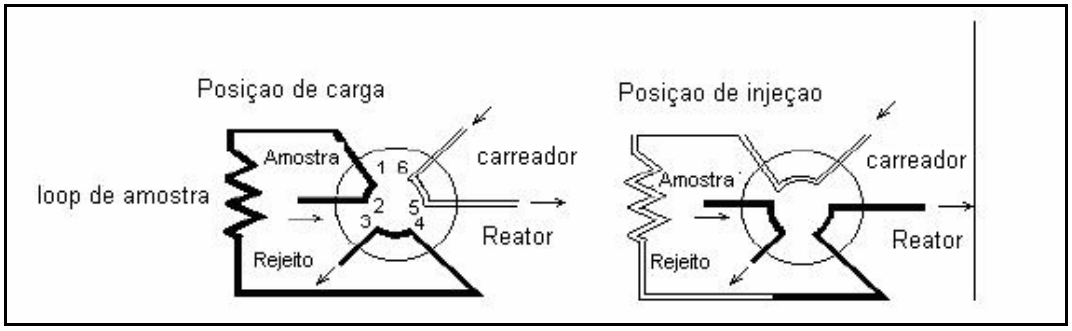



Figura 14. Válvula de seis vias.

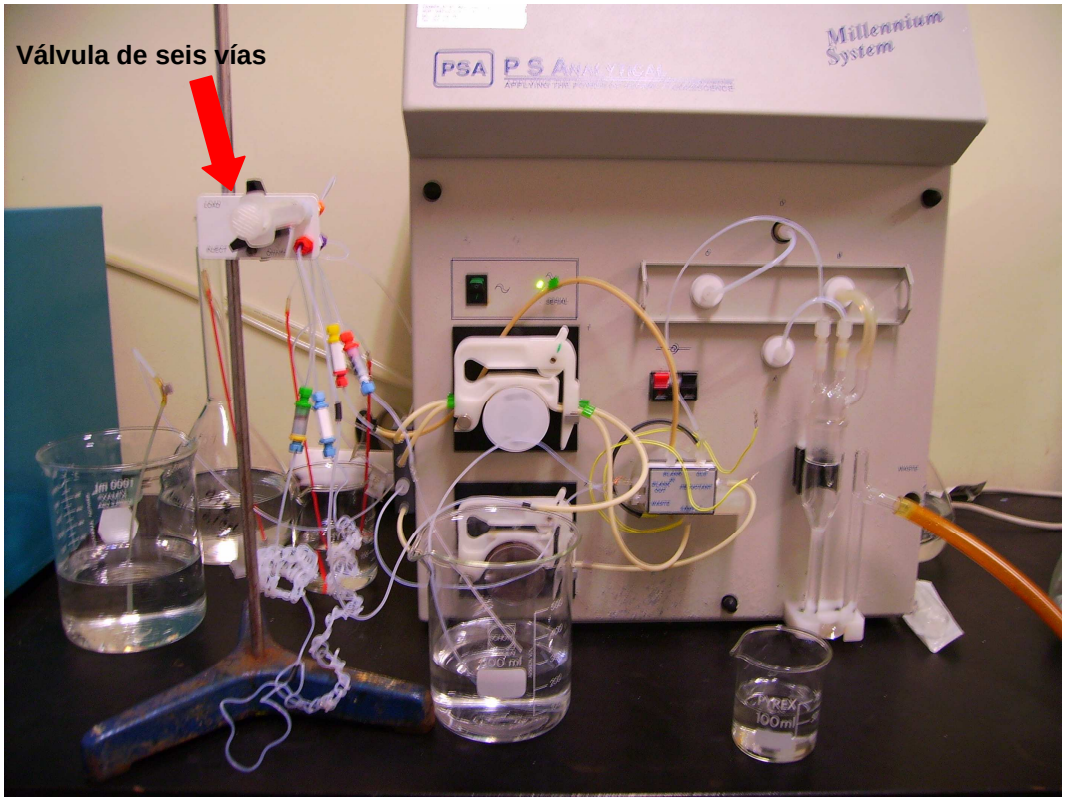



Figura 15. Espectrômetro de Fluorescência Atômica com válvula de seis vias para a injeção das amostras.

Neste caso, otimizar o sistema significou reduzir o consumo de amostra, sem sacrificar a sensibilidade. A figura 16 apresenta a intensidade de fluorescência obtida por aspiração continua da amostra (indicado como 9 mL na figura) e com o uso de alças de amostragem de diferentes volumes (2 e 3 mL).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

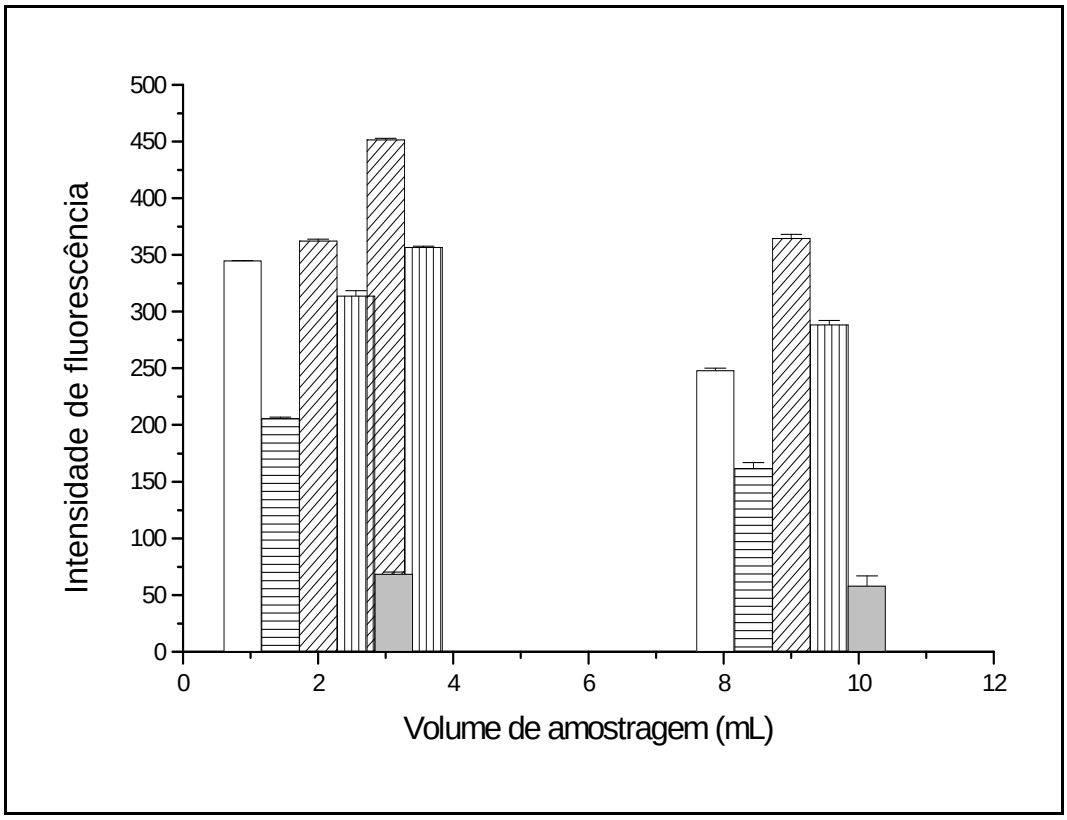



Figura 16. Efeito do volume da alça de amostragem para As (□), Sb (▤), Se (▨), Te (▥) e Bi (■).

Dos resultados obtidos para cada elemento, observou-se que, no caso do As, Sb e Bi, o uso de uma alça de amostragem de 2 mL proporcionou em alguns casos uma melhor intensidade de fluorescência e em outra a mesma intensidade do que a obtida por bombeamento direto. Já para Se e Te, foi necessário utilizar uma alça de amostragem de 3 mL visando ter uma boa intensidade de fluorescência em relação a obtida por bombeamento direto. Definidos os volumes a serem utilizados para cada elemento, a alça de amostragem foi acoplada ao espectrômetro de fluorescência atômica (mostrado na figura 15) e seguindo o procedimento já descrito anteriormente. Esta modificação do sistema original por bombeamento continuo permitiu realizar as medidas dos cinco elementos na mesma solução proveniente da digestão da amostra, reduzindo também o tempo de medição instrumental.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

## 5.2.3.
## Otimização da bobina de reação

Realizou-se um estudo do efeito do comprimento da bobina de reação sobre a intensidade de fluorescência para cada um dos elementos estudados. A otimização deste parâmetro é importante visto que influi diretamente na reação de geração de hidretos, pois, se a bobina de reação não for suficientemente longa, a formação dos hidretos não será quantitativa e, portanto, a sensibilidade do método diminuirá. Por outro lado, se for excessivamente longo, poder-se-ia produzir a diluição do hidreto, diminuindo assim a sensibilidade. Nas figuras 17 e 18 mostram-se as intensidades de fluorescência encontradas em relação aos diferentes comprimentos de bobina de reação utilizados para este estudo. Esta avaliação foi realizada tanto por bombeamento direto assim como com o uso da válvula de injeção.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

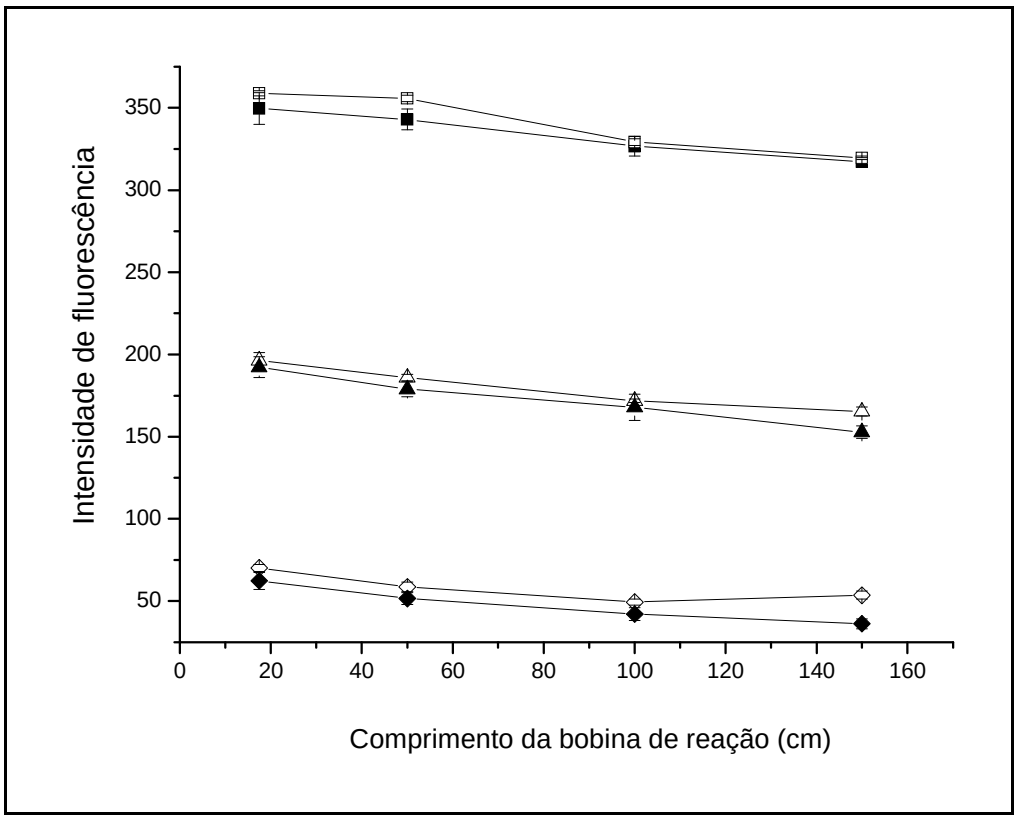



Figura 17. Estudo do efeito do comprimento da bobina de reação para As (■), Sb (▲) e Bi (♦). Símbolos cheios, com alça de amostragem de 2 mL; símbolos vazados, bombeamento direto, para ambos todos os casos n=3.

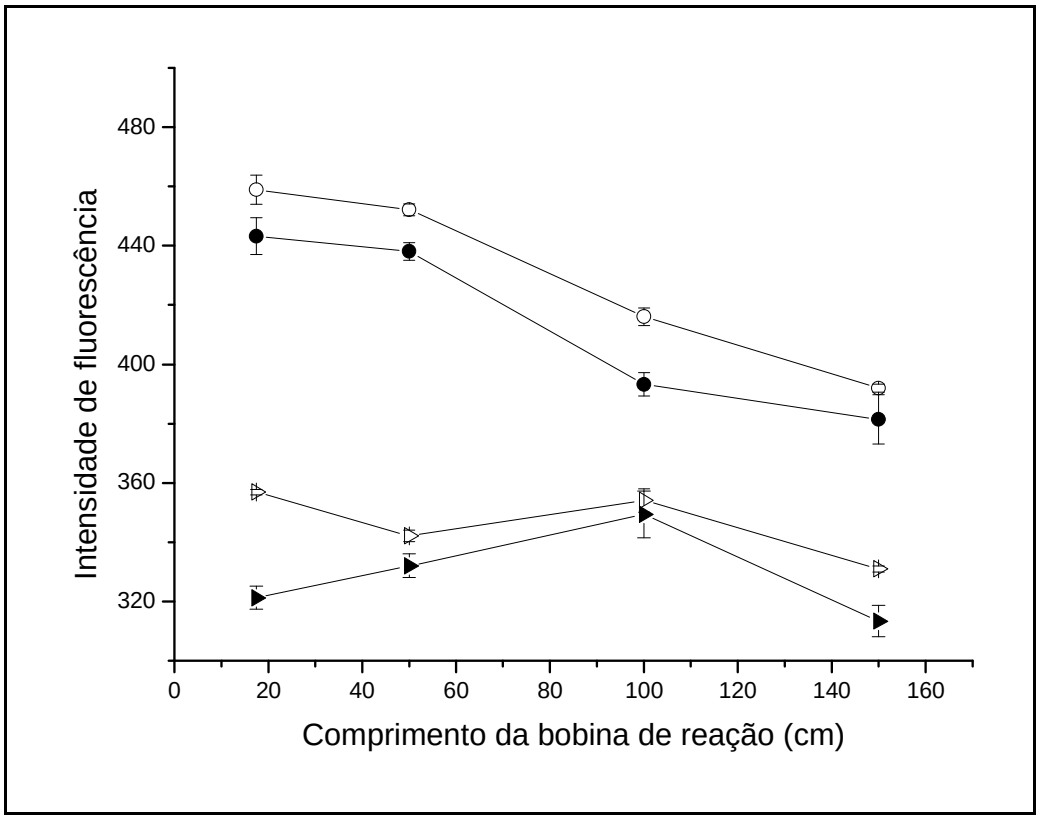



Figura 18. Estudo do efeito do comprimento da bobina de reação para Se (●) e Te (►). Símbolos cheios, com alça de amostragem de 3 mL; símbolos vazados, bombeamento direto, para ambos todos os casos n=3.

Analisando os resultados obtidos utilizando a alça de amostragem, observou-se que, no sistema de trabalho escolhido a priori, para o As a intensidade de fluorescência diminuiu discretamente com o incremento do comprimento da bobina de reação, enquanto que para o Se a intensidade de fluorescência diminuiu acentuadamente. Já para o Te, o sinal de fluorescência diminuiu inicialmente para depois subir, mas finalmente tem uma queda. Para o Sb e o Bi, a diminuição da intensidade de fluorescência também diminuiu discretamente. Portanto, considerou-se conveniente não alterar o comprimento inicial da bobina de reação que vinha com o aparelho (17,5 cm), pois também foi o comprimento que apresentou uma menor variação (menor desvio padrão). É importante destacar que os estudos foram realizados com e sem alça de amostragem, sendo que os melhores resultados foram aqueles obtidos com ela.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

### 5.2.4.
### Estudos de recuperação e exatidão

Selecionaram-se amostras de olerícolas, grãos e leguminosas, às quais se adicionaram 50 ng $g^{-1}$ de cada um dos elementos estudados. As recuperações obtidas para os elementos citados nas amostras em estudo se encontram na faixa de 90 a 100% (tabela 7). Não houve perdas dos analitos nem contaminação nas amostras durante a calcinação por via seca, assim como na análise instrumental. As amostras selecionadas foram analisadas seguindo o procedimento descrito.

Tabela 7. Recuperação (%) para As, Sb, Se, Te e Bi em olerícolas, grãos e leguminosas ($ng\ g^{-1}$, $\bar{x}$, $\sigma$, n=3)

| Elemento | Olerícolas | Grãos | Leguminosas |
|---|---|---|---|
| As | 99,5 ± 0,1 | 97,2 ± 0,8 | 96,3 ± 0,3 |
| Sb | 93,4 ± 0,2 | 91,4 ± 0,3 | 90,1 ± 0,1 |
| Se | 96,2 ± 0,4 | 97,0 ± 0,6 | 95,4 ± 0,6 |
| Te | 98,4 ± 0,7 | 98,2 ± 0,3 | 97,6 ± 0,7 |
| Bi | 94,4 ± 0,5 | 96,2 ± 0,4 | 96,7 ± 0,5 |

A exatidão do método foi determinada pela análise de dois materiais de referencia certificados (CRM) do NIST, Rice Flour (SRM 1568a) e Tomato Leaves (SRM 1573). Para o NIST 1568a os valores certificados são 0,29 ± 0,03 e 0,38 ± 0,04 μg $g^{-1}$, para As e Se respectivamente. Após aplicar o método ao material de referência certificado os resultados obtidos foram de 0,267 ± 0,003 e 0,368 ± 0.008 para As e Se, respectivamente. Já para o NIST 1573 o valor certificado para As é de 0,27 ± 0.05 μg $g^{-1}$ e o resultado obtido foi de 0,257 ± 0,005. Em todos os casos os resultados obtidos do material certificado pela metodologia proposta não apresentaram diferencia significativa com os valores certificados (Student t-test, $p<0,05$).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

### 5.2.5.
### Figuras de mérito

Os valores de limite de detecção (LD) foram estimados a partir de $3s_B/m$, onde $s_B$ é o desvio padrão que foi estimado de 10 medidas de branco e m a inclinação da curva analítica, nas melhores condições experimentais. Foram considerados a massa das amostras e o fator de diluição. A tabela 8 apresenta as principais figuras de mérito da metodologia para cada elemento em estudo nas amostras analisadas. Em todos os casos foi obtida uma boa linearidade ($R$ > 0.999) para uma faixa de concentração de 0,06 - 2.5 ng $mL^{-1}$ (As); 0,02 - 0,5 ng $mL^{-1}$ (Sb); 0,05 - 4 ng $mL^{-1}$ (Se); 0,12 - 4 ng $mL^{-1}$ (Te) e 0,09 - 10 ng $mL^{-1}$ (Bi). Os limites de detecção variam entre 0,21 - 2 ng $g^{-1}$. A repetitividade (r) foi calculada para um nível de concentração de 0,5 ng $mL^{-1}$ e 7 replicatas (As), 0,2 ng $mL^{-1}$ (Sb), 1 ng $mL^{-1}$ (Se,Te e Bi) e segundo os resultados obtidos varia na faixa 2 a 10%. A reprodutibilidade (R) foi determinada como função do desvio padrão relativo e 7 replicatas sendo obtidos valores na faixa de 3 a 13%.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Tabela 8. Figuras analíticas de mérito na determinação de As, Sb, Se, Te e Bi em olerícolas, grãos e leguminosas

| | | Olerícolas | | | | Grãos | | | | Leguminosas | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Elemento | *R* | LD ng $g^{-1}$ | LQ ng $g^{-1}$ | r % | R % | LD ng $g^{-1}$ | LQ ng $g^{-1}$ | r % | R % | LD ng $g^{-1}$ | LQ ng $g^{-1}$ | r % | R % |
| As | 0,9996 | 0,5 | 1,8 | 2 | 3 | 0,5 | 1,8 | 2 | 3 | 0,6 | 2,1 | 10 | 12 |
| Sb | 0,9997 | 0,2 | 0,7 | 4 | 5 | 0,2 | 0,7 | 7 | 7 | 0,2 | 0,7 | 7 | 7 |
| Bi | 0,9997 | 1,4 | 4,6 | 9 | 11 | 1,6 | 5,3 | 10 | 13 | 2 | 6,6 | 2 | 3 |
| Se | 0,9999 | 0,7 | 2,3 | 3 | 4 | 0,7 | 2,4 | 2 | 4 | 0,7 | 2,3 | 2 | 3 |
| Te | 0,9999 | 1,7 | 5,8 | 4 | 6 | 1,7 | 5,7 | 9 | 10 | 1,7 | 5,8 | 4 | 6 |

LD=limite de detecção; LQ=limite de quantificação; *R*= coeficiente de determinação; r=repetitividade; R=reprodutibilidade

## 5.2.6.
## Determinação do conteúdo total de As, Sb, Se, Te e Bi

Nas tabelas 9, 10 e 11 apresentam-se os resultados da determinação dos diferentes elementos estudados, para uma seleção de amostras de diferentes matrizes e origem. A estratégia seguida foi escolher três grupos: olerícolas, grãos e leguminosas, dentro dos quais se pode fazer uma distinção segundo suas características. As amostras foram calcinadas por via seca, conforme descrito anteriormente, e quantificadas por HG AFS, utilizando os parâmetros instrumentais indicados na tabela 3. A análise foi feita em triplicata.

As amostras da tabela 9 podem ser classificadas em vegetais de folha, fruto e tubérculos. Em relação ao As, as quantidades em peso seco variam entre 20 e 130 ng $g^{-1}$. No caso dos frutos (berinjela, abobrinha, vagem e tomate), estas amostras apresentam um comportamento semelhante, pois se observaram desde os valores mais altos (berinjela) até o mais baixo (tomate). No caso do Sb, Se e Bi, as concentrações foram muito variáveis, sem seguir nenhuma tendência com respeito ao tipo de amostra. Os níveis máximos foram encontrados nas acelgas e espinafres para Sb, em abobrinha, alcachofra e vargem para Bi, e em berinjela e alcachofra para Se. Por último, observou-se que as quantidades de Te foram muito pequenas e da mesma ordem de grandeza para todas as amostras (ao redor de 1 ng $g^{-1}$). Na tabela 10 apresentam-se as porcentagens de umidade e os conteúdos em peso fresco (amostra original).

Em geral os níveis de umidade mostraram-se em torno de 90%. Em relação aos níveis máximos permitidos na legislação espanhola, todas as amostras cumpriram a legislação vigente, não representando perigo nenhum para a saúde pública do ponto de vista toxicológico.

Para as leguminosas (tabela 10) observou-se que os maiores conteúdos correspondem ao Se, podendo-se dizer que os legumes são alimentos ricos em Se (da ordem de 100 - 200 ng $g^{-1}$), a exceção da lentilha castelhana. O conteúdo de As oscila entre 13 e 60 ng $g^{-1}$, destacando que os dois tipos de feijão apresentaram o mesmo nível. O Sb, Bi e Se apresentaram quantidades muito baixas em todas as amostras, inferiores a 1 ng $g^{-1}$ na maioria dos casos, o que contrasta com os valores encontrados em vegetais ou outro tipo de alimentos. Em todos os casos, os valores encontrados são inferiores ao máximo permitido na legislação espanhola. Na tabela 11 detalham-se as concentrações encontradas para As, Sb, Bi, Se e Te encontradas nas amostras de grãos. Vale

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

destacar que, excetuando o arroz, os outros produtos são normalmente submetidos a processos industriais de transformação do produto.

Tabela 9. Teores totais de As, Sb, Se, Te e Bi em olerícolas (ng $g^{-1}$, peso seco; $\bar{x}\pm\sigma$, n=3)

| Tipo de Amostra | As | Sb | Se | Te | Bi |
|---|---|---|---|---|---|
| Alcachofra | 45 ± 5 | 3 ± 1 | 77 ± 4 | < LOD | 15 ± 1 |
| Vargem | 30 ± 6 | 3 ± 1 | 15 ± 4 | < LOD | 15 ± 4 |
| Alho | 83 ± 3 | 16 ± 1 | 41 ± 4 | < LOD | 2,4 ± 0,3 |
| Abobrinha | 38 ± 3 | 2,0 ± 0,2 | 10 ± 3 | < LOD | 48 ± 5 |
| Cebola | 39 ± 5 | 2,4 ± 0,4 | 10 ± 1 | < LOD | 5 ± 1 |
| Berinjela | 84 ± 3 | 2,3 ± 0,1 | 86 ± 5 | < LOD | < LOD |
| Acelga | 131 ± 4 | 47 ± 3 | 21 ± 1 | < LOD | 10 ± 3 |
| Espinafre | 57 ± 6 | 44 ± 5 | 22 ± 2 | < LOD | 8,6 ± 0,2 |
| Tomate | 20 ± 3 | 16 ± 2 | 47 ± 2 | < LOD | 6,9 ± 0,4 |

Tabela 10. Teores totais de As, Bi, Sb, Se e Te em leguminosas (ng $g^{-1}$, peso seco; $\bar{x}\pm\sigma$, n=3)

| Amostra | As | Sb | Se | Te | Bi |
|---|---|---|---|---|---|
| Feijão branco | 13 ± 2 | < LOD | 204 ± 4 | < LOD | < LOD |
| Feijão vermelho | 14 ± 3 | 0.76± 0.08 | 109 ± 4 | < LOD | < LOD |
| Lentilha castelhana | 29 ± 1 | 1.3 ± 0.1 | < LOD | < LOD | < LOD |
| Grão de bico | 61 ± 2 | 1.5 ± 0.1 | 270 ± 4 | < LOD | < LOD |

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Tabela 11. Teores totais de As, Bi, Sb, Se e Te em grãos (ng $g^{-1}$, peso seco; $\bar{x}\pm\sigma$, n=3)

| Amostra | As | Sb | Se | Te | Bi |
|---|---|---|---|---|---|
| Sêmola de trigo | 86 ± 4 | < LOD | 50 ± 6 | < LOD | < LOD |
| Farinha de trigo | < LOD | < LOD | 50 ± 3 | < LOD | < LOD |
| Farinha de milho | < LOD | < LOD | 109 ± 2 | < LOD | < LOD |
| Arroz | 105 ± 4 | < LOD | 67 ± 2 | < LOD | < LOD |
| Sêmola de arroz | 145 ± 5 | < LOD | 67 ± 5 | < LOD | < LOD |

No caso do As, destaca-se o arroz, cujos níveis são os mais altos, assim como os da sêmola de arroz, visto que provavelmente o cultivo foi submerso em água. Deve-se considerar que as águas que são utilizadas para o cultivo do arroz podem ser não tratadas, já que não se destinam ao consumo humano e, às vezes, incluem águas residuais não depuradas. Por outro lado, chama a atenção a concentração de As encontrada na sêmola de trigo (86 ± 4 ng $g^{-1}$), frente à farinha de trigo (0,33 ± 0,01 ng $g^{-1}$), pois apesar de as amostras não guardarem nenhuma relação entre si a respeito da origem do solo de cultivo, não parece normal, e é provável que se deva a ingredientes empregados na elaboração da sêmola.

Em relação aos níveis de Se, observou-se que aparecem como subgrupos, onde o arroz e a sêmola de arroz possuem a mesma concentração e o trigo e a sêmola de trigo também, sendo mais alto o nível na farinha de milho, embora da mesma ordem de grandeza. As concentrações de Se foram a metade do que as encontradas nas leguminosas, mas da ordem daquelas obtidas nos vegetais. Devido ao fato da umidade das amostras de grãos ser baixa (inferior a 12%), as concentrações dos metais em peso seco não são muito diferentes daquelas obtidas para peso fresco, semelhante aos legumes.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

## 5.3.
## Análise de especiação de arsênio

### 5.3.1.
### Seleção das condições de extração para a determinação de espécies de arsênio

Os estudos de especiação visaram a determinação apenas das espécies tóxicas de arsênio. A espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos permite quantificar somente o As inorgânico e as espécies metiladas (ácido monometilarsônico-MMA, ácido dimetilarsínico-DMA), que são espécies que geram hidretos, e que são, as mais tóxicas. Visto que cada uma destas espécies responde a diferentes condições de redução, é possível realizar a análise de especiação por uma estratégia não cromatográfica.

Um estudo preliminar foi desenvolvido visando avaliar as melhores condições de extração do arsênio inorgânico nas amostras em estudo. Este estudo foi realizado utilizando um procedimento que permitiu tão somente a identificação de duas espécies (As III e As V), utilizando duas condições distintas de redução e, em conseqüência, a montagem de um sistema de duas equações, envolvendo as intensidades de fluorescência encontradas. Vários agentes de extração, como HCl 6 mol $L^{-1}$, $HNO_3$ 1 mol $L^{-1}$, $H_3PO_4$ 1 mol $L^{-1}$, ácido acético 1 mol $L^{-1}$, água régia, ácido trifluoroacético 2 mol $L^{-1}$, ácido tricloroacético 2 mol $L^{-1}$ e uma mistura metanol:água (1:1) foram avaliados. O objetivo desta fase preliminar foi identificar as soluções extratoras mais promissoras para uma extração completa do As inorgânico, sem a preocupação da interconversão das espécies, já que apenas o As III e V são diferenciáveis.

Sabe-se que o As inorgânico é, em geral, a maior fração do grupo de espécies tóxicas. Em estudos anteriores, água régia foi utilizada como agente de extração em produtos lácteos[137], assim como ácido nítrico diluído em organismos marinhos[70]. O ácido clorídrico possui um comportamento não oxidante e, além disso, forma o tricloreto e pentacloreto a partir de As(III) e As(V). O ácido acético e o ácido fosfórico foram recentemente propostos como extratores em sistemas de extração pressurizados, assim como o ácido trifluoroacético foi utilizado como agente de extração em arroz e produtos de alimentação infantil[61]. A tabela 12 mostra os resultados obtidos com os diversos agentes de extração avaliados, aplicados às amostras de acelga, berinjela, arroz e sêmola, amostras que foram selecionadas pelo alto conteúdo de arsênio encontrado.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Tabela 12. Teores (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

| Agente de extração | Acelga | Berinjela | Arroz | Sêmola |
|---|---|---|---|---|
| HCl 6 mol $L^{-1}$ | 85 ± 3 | 81 ± 4 | 100 ± 2 | 86 ± 6 |
| $HNO_3$ 1 mol $L^{-1}$ | 75 ± 8 | 67 ± 3 | 82 ± 1 | 75 ± 1 |
| Ácido acético 1 mol $L^{-1}$ | 61 ± 2 | 73 ± 3 | 90 ± 1 | 43 ± 1 |
| $H_3PO_4$ 1 mol $L^{-1}$ | 92 ± 2 | 80 ± 2 | 101 ± 1 | 77,5 ± 0,2 |
| Metanol:água 1:1 | 98 ± 1 | 87 ± 1 | 98 ± 2 | 55,0 ± 0,2 |
| Água regia | 81 ± 1 | 52 ± 3 | 94 ± 1 | 91 ± 2 |
| Ácido trifluoroacético 2 mol $L^{-1}$ | 83 ± 3 | 92 ± 2 | 75 ± 1 | 82 ± 1 |
| Ácido tricloroacético 2 mol $L^{-1}$ | 61 ± 1 | 68 ± 1 | 60,4 ± 0,4 | 51 ± 1 |
| Teores totais | 131 ± 4 | 84 ± 3 | 105 ± 4 | 86 ± 4 |

Os resultados mostram que os melhores agentes de extração do arsênio contido nas amostras de berinjela foram HCl, $H_3PO_4$ e a mistura de metanol:água. As porcentagens de extração foram de quase 100%, quando comparados com a concentração encontrada após calcinação por via seca e determinação por HG AFS. A água régia extraiu 62%, enquanto que o $HNO_3$ cerca de 80%.

No caso das amostras de acelga, nenhum dos agentes de extração forneceu resultados próximos à concentração de total de arsênio determinada após calcinação por via seca. Desta maneira, as porcentagens de extração para a mistura metanol:água foi de 75%, 70% para $H_3PO_4$ e 65% para HCl. Com os outros extratores obtiveram-se rendimentos de extração inferiores. Poder-se-ia explicar este resultado devido à presença de espécies adicionais de arsênio ou por uma ineficiente extração de As(III), As(V), MMA ou DMA. As(III) e As(V) foram as principais espécies encontradas nas amostras de acelga e berinjela

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

(tabela 13), como também tem sido registrado para cenoura, beterraba, batata e cebolinha[68].

Em relação ao arroz, os agentes de extração mais eficientes foram HCl, $H_3PO_4$ e a mistura metanol:água. Já para a sêmola, melhores eficiências de extração foram obtidas com HCl, $HNO_3$, $H_3PO_4$ e ácido trifluoroacético. Para as amostras de grãos, as baixas eficiências de extração obtidas com a mistura metanol:água (64-69%) não pode ser interpretada como devida à alguma interferência do metanol no processo de redução, visto que a sua evaporação antes da determinação instrumental por HG AFS não melhorou os resultados significativamente (tabela 14).

O acido fosfórico foi escolhido como o agente de extração devido a que mostro resultados mais promissórios em relação aos outros extratores.

Tabela 13. Concentrações de As(III) e As(V), ng $g^{-1}$ em amostras de acelga e berinjela

| | Acelga | | Berinjela | |
|---|---|---|---|---|
| Agente de extração | As(III) | As(V) | As(III) | As(V) |
| HCl 6 mol $L^{-1}$ | 70 ± 2 | 15 ± 2 | 10 ± 8 | 71 ± 8 |
| $HNO_3$ 1 mol $L^{-1}$ | 23 ± 7 | 52 ± 4 | 4 ± 5 | 63 ± 7 |
| Água regia | 56 ± 3 | 15 ± 4 | 13 ± 3 | 39 ± 2 |
| Acido acético 1 mol $L^{-1}$ | 51 ± 9 | 10 ± 9 | 31 ± 9 | 42 ± 9 |
| $H_3PO_4$ 1 mol $L^{-1}$ | 45 ± 4 | 47 ± 4 | 13 ± 3 | 67 ± 2 |
| Metanol:água 1:1 | 82 ±10 | 16 ±10 | 71 ±2 | 16 ± 2 |
| Ácido trifluoroacético 2 mol $L^{-1}$ | 74 ± 2 | 8 ± 1 | 66 ± 4 | 26 ± 2 |
| Ácido tricloroacético 2 mol $L^{-1}$ | 25 ± 2 | 36 ± 3 | 9 ± 1 | 59 ± 1 |

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Tabela 14. Concentrações de As(III) e As(V), ng $g^{-1}$ em amostras de arroz e sêmola

| | Arroz | | Sêmola | |
|---|---|---|---|---|
| Agente de extração | As(III) | As(V) | As(III) | As(V) |
| HCl 6 mol $L^{-1}$ | 59 ± 11 | 41 ± 18 | 27 ± 6 | 59 ± 8 |
| $HNO_3$ 1 mol $L^{-1}$ | 66 ± 3 | 16 ± 4 | 19 ± 2 | 56 ± 3 |
| Água regia | 46 ± 4 | 48 ± 1 | 63 ± 3 | 27 ± 2 |
| Acido acético 1 mol $L^{-1}$ | 51 ± 2 | 39 ± 2 | 11 ± 9 | 32 ± 9 |
| $H_3PO_4$ 1 mol $L^{-1}$ | 63 ± 4 | 38 ± 4 | 21 ± 4 | 57 ± 3 |
| Metanol:água 1:1 | 46 ±6 | 32 ±7 | 31 ±2 | 24 ± 1 |
| Ácido trifluoroacético 2 mol $L^{-1}$ | 66 ± 1 | 9 ± 2 | 22 ± 5 | 60 ± 5 |
| Ácido tricloroacético 2 mol $L^{-1}$ | 55 ± 1 | 5 ± 1 | 23 ± 1 | 28 ± 1 |

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

### 5.3.2.
### Estratégia para a determinação de As(III), As(V), MMA e DMA

Estudos anteriores[70,137], mostraram, que o As(V) reage com o $NaBH_4$ mais lentamente em comparação com o As(III), portanto com a intensidade de fluorescência produzida pela espécies pentavalente sendo mais dependente das condições de geração de hidretos, representando ao redor de 50-70% daquela produzida pela espécie trivalente; o mesmo comportamento foi observado para o DMA e MMA[137].

Esta foi a base do procedimento de análise de especiação apresentado no presente trabalho, as medidas instrumentais por HG AFS das soluções de calibração e amostras foram realizadas em quatro condições experimentais diferentes, o que permitiu estabelecer um sistema de quatro equações lineares e independentes, sendo a intensidade de fluorescência obtida em cada caso proporcional à concentração de As(III), As(V), DMA e MMA. As condições escolhidas (A, B, C e D) são mostradas na tabela 4.

$$I(A) = m_A[As(III)] + n_A[As(V)] + p_A[DMA] + q_A[MMA]$$
$$I(B) = m_B[As(III)] + n_B[As(V)] + p_B[DMA] + q_B[MMA\ ]$$
$$I(C) = m_C[As(III)] + n_C[As(V)] + p_C[DMA] + q_C[MMA]$$
$$I(D) = m_D[As(III)] + n_D[As(V)] + p_D[DMA] + q_D[MMA]$$

A condição A representa a intensidade de fluorescência máxima para MMA e DMA, enquanto que, na condição C, se obtém a máxima sensibilidade para As(III) e As(V). A condição B representa um comportamento intermediário das espécies e, finalmente, na condição D, a solução KI/ácido ascórbico foi adicionada previamente à alíquota de análise, com o intuito de reduzir o As(V) e MMA a seu estado de oxidação III. Esta estratégia foi aplicada às amostras de acelga, berinjela, arroz e sêmola para a determinação de As(III), As(V), DMA e MMA. A tabela 15 apresenta as concentrações obtidas em cada caso.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Tabela 15. Determinação de espécies de arsênio tóxico (ng $g^{-1}$, n=3, $\pm\sigma$) em amostra de acelga (AC), berinjela (B), sêmola (S) e arroz (A)

| Amostras | As(III) | As(V) | DMA | MMA | Soma das espécies |
|---|---|---|---|---|---|
| AC | 90 ± 1 | 15 ± 1 | 4,2 ± 0,1 | 3,6 ± 0,1 | 113 ± 1 |
| B | 21 ± 1 | 61 ± 1 | 1,2 ± 0,1 | 1,2 ± 0,1 | 84,4 ± 0,6 |
| S | 55 ± 1 | 25 ± 1 | 1,9 ± 0,1 | 1,5 ± 0,1 | 83,4 ± 1,7 |
| A | 22 ± 1 | 57 ± 1 | 4,2 ± 0,1 | 2,2 ± 0,1 | 85,4 ± 0,8 |

Das concentrações das espécies tóxicas de As encontradas nas amostras de acelga e berinjela, conclui-se que as principais espécies foram As(III) e As(V) e, em nível mais baixo, DMA (1,2 – 4,2 ng $g^{-1}$) e MMA (1,2 – 3,6 ng $g^{-1}$). Nas amostras de berinjela a espécie principal é As(V) e nas de acelga As(III). O conteúdo de arsênio inorgânico total obtido corresponde a 95% e 97% para acelga e berinjela, respectivamente, o qual concorda com os resultados reportados para amostras de maçã liofilizadas, com porcentagens entre 73 e 91%[64].

### 5.3.3.
### Estudos de recuperação

A cada uma das amostras em estudo adicionaram-se 100 ng $g^{-1}$ de As(III), As(V), 108 e 111 ng $g^{-1}$ de DMA e MMA, respectivamente. Na tabela 16 se apresentam às concentrações obtidas após a adição de cada um dos analitos assim como a soma das espécies. A tabela 17 mostra as recuperações obtidas, todas elas próximas a 100% para todas as espécies. Nas amostras de acelga, As(III) e As(V) foram quase recuperadas completamente, já as recuperações das espécies metiladas estiveram próximas a 92%. As recuperações obtidas para cada uma das espécies em estudo nas amostras de arroz foram maiores de 90% em todos os casos. Já para as amostras de sêmola, As(III), As(V) e MMA mostraram recuperações maiores que 95%; no entanto, para MMA, este valor foi de 90%.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Tabela 16. Estudo de recuperação das espécies de arsênio tóxico (ng $g^{-1}$, n=3, ±σ) em amostra de acelga (AC), berinjela (B), sêmola (S) e arroz (A)

| Amostras | As(III) | As(V) | DMA | MMA | Σ |
|---|---|---|---|---|---|
| AC + As(III)[a] | 186 ± 2 | 13,4 ± 0,5 | 4,1 ± 0,1 | 3,8 ± 0,3 | 207 ± 1 |
| AC + As(V)[b] | 90 ± 1 | 114 ± 1 | 3,9 ± 0,1 | 3,8 ± 0,1 | 212 ± 1 |
| AC + DMA[c] | 89 ± 1 | 14,1 ± 0,5 | 104 ± 1 | 3,9 ± 0,1 | 212 ± 1 |
| AC + MMA[d] | 90 ± 1 | 14 ± 1 | 4,1 ± 0,1 | 104 ± 1 | 212 ± 1 |
| B + As(III)[a] | 121 ± 1 | 61 ± 1 | 1,2 ± 0,1 | 1,2 ± 0,1 | 184 ± 1 |
| B + As(V) [b] | 20,9 ± 0,1 | 161 ± 1 | 1,2 ± 0,1 | 1,20 ± 0,01 | 184 ± 1 |
| B + DMA [c] | 20 ± 1 | 60 ± 1 | 109 ± 1 | 1,2 ± 0,1 | 191 ± 1 |
| B + MMA [d] | 20 ± 1 | 60 ± 1 | 1,1 ± 0,1 | 112 ± 1 | 194 ± 1 |
| S + As(III)[a] | 149 ± 2 | 23 ± 1 | 1,7 ± 0,1 | 1,5 ± 0,1 | 175 ± 1 |
| S + As(V) [b] | 55 ± 1 | 122 ± 4 | 1,9 ± 0,1 | 1,6 ± 0,1 | 181 ± 4 |
| S + DMA [c] | 53 ± 1 | 25 ± 1 | 101 ± 1 | 1,6 ± 0,1 | 180 ± 3 |
| S + MMA [d] | 55 ± 1 | 27 ± 1 | 1,8 ± 0,1 | 101 ± 1 | 185 ± 1 |
| A + As(III)[a] | 114 ± 4 | 56 ± 1 | 4,1 ± 0,1 | 2,2 ± 0,1 | 176 ± 5 |
| A + As(V)[b] | 22 ± 1 | 152 ± 1 | 4,2 ± 0,1 | 2,2 ± 0,1 | 181 ± 1 |
| A + DMA[c] | 22 ± 1 | 55 ± 1 | 103 ± 1 | 2,2 ± 0,1 | 182 ± 1 |
| A + MMA[d] | 22 ± 1 | 56 ± 1 | 4,2 ± 0,1 | 104 ± 1 | 187 ± 2 |

[a] adição de 100 ng $g^{-1}$ de As(III)

[b] adição de 100 ng $g^{-1}$ de As(V)

[c] adição de 108 ng $g^{-1}$ de DMA

[d] adição de 111 ng $g^{-1}$ de MMA

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Tabela 17. Recuperação (%) para As(III), As(V), DMA e MMA em cada uma das amostras estudadas

| Amostra | As(III) | As(V) | DMA | MMA |
|---|---|---|---|---|
| Acelga | 98 ± 1 | 99 ± 1 | 93 ± 1 | 91 ± 1 |
| Berinjela | 100 ± 1 | 100 ± 1 | 100 ± 1 | 100 ± 1 |
| Arroz | 94 ± 3 | 97 ± 1 | 92 ± 1 | 92 ± 1 |
| Sêmola | 96 ± 1 | 98 ± 3 | 92 ± 1 | 90 ± 1 |

### 5.3.4. Exatidão

#### 5.3.4.1. Interferência da arsenobetaína

Para garantir que não existia nenhuma degradação das espécies orgânicas de arsênio durante a extração, uma concentração de arsenobetaína, 100 ng $g^{-1}$, foi adicionada a cada uma das amostras, antes da etapa de extração. Os resultados obtidos apresentam-se na tabela 18. Não foi observado nenhum incremento significativo das outras espécies em estudo podendo-se concluir, então pela ausência de interconversão, que a diferença entre a concentração total de arsênio nas amostras de acelga, berinjela, arroz, sêmola e o somatório dos conteúdos encontrados depois do processo de extração e a aplicação do sistema de quatro equações, deve ser devido à presença de espécies organo-arsenicais que não geram hidretos.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Tabela 18. Influência da presença de arsenobetaína (100 ng $g^{-1}$) na determinação de arsênio tóxico por HG AFS (n=3)

| Amostras | Sem adição de arsenobetaína | Com adição de arsenobetaína* |
|---|---|---|
| Acelga | 90 ± 3 | 92 ± 2 |
| Berinjela | 85 ± 1 | 87 ± 3 |
| Arroz | 92 ± 1 | 93 ± 2 |
| Sêmola | 85 ± 2 | 89 ± 2 |

### 5.3.4.2. Método comparativo

As amostras de acelga, berinjela, arroz e sêmola foram analisadas para a determinação de arsênio inorgânico usando um método alternativo, baseado na extração com ácido clorídrico e clorofórmio e retro-extração à fase aquosa[114]. A concentração de arsênio tóxico encontrado nas amostras de berinjela foi de 83,5 ± 1,1 e para as de acelga, 126 ± 3 ng $g^{-1}$. No caso das amostras de acelga, a concentração encontrada foi de 96% da concentração de arsênio total, quantificada após calcinação por via seca. As concentrações de arsênio tóxico total, encontradas nas amostras de arroz e sêmola (n=3) pelo método alternativo foram 87 ± 1 e 85 ± 1 ng $g^{-1}$, resultados que tem boa concordância com as concentrações de arsênio tóxico total (AsIII+AsV+MMA+DMA), encontradas pela metodologia proposta (86 ± 1 e 87 ± 1 ng $g^{-1}$, respectivamente).

### 5.3.4.3 Análise de especiação de arsênio em materiais de referencia

Existem alguns estudos de arsênio inorgânico em materiais de referência de cereais; no entanto, não existem dados registrados relacionados à especiação de arsênio em materiais de referência de vegetais. No presente trabalho, foi determinada a concentração de As(III), As(V), DMA e MMA em dois materiais de referência, NIST 1573 (Tomate Leaves) e NIST 1568a (Rice Flour).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Os resultados obtidos mostram que a soma das espécies é compatível com o conteúdo total de arsênio nos materiais certificados. Além disso, no caso dos cereais, a especiação de arsênio inorgânico obtida com a metodologia proposta apresenta uma boa concordância com outros resultados reportados em estudos similares com o mesmo material de referência (NIST 1568a)[60,61,138]. A tabela 19 apresenta os resultados obtidos para a determinação de As(III), As(V), DMA e MMA nos materiais de referência anteriormente citados, e a tabela 20 mostra alguns resultados obtidos em outros estudos utilizando o mesmo material certificado de referência.

Tabela 19. Análise de especiação de arsênio (ng $g^{-1}$) nos materiais certificados NIST 1573 (Tomate Leaves) e NIST 1568a (Rice Flour)

| Amostra | As(III) | As(V) | DMA | MMA | Σ espécies | Eficiência de extração [a,b] % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| NIST 1573 | 86 ± 2 | 46 ± 1 | 119 ± 3 | 6,2 ± 0,3 | 257 ± 6 | 95 ± 2 |
| NIST 1568a | 69 ± 1 | 32,60 ± 0,98 | 155 ± 2 | 9,23 ± 0,15 | 267 ± 3 | 91,9 ± 1,2 |

[a] Eficiência de extração em relação ao valor certificado (0,27 ± 0,02 µg $g^{-1}$)

[b] Eficiência de extração em relação ao valor certificado (0,29 ± 0,02 µg $g^{-1}$)

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA

Tabela 20. Análise de especiação de As em material certificado de referencia NIST 1568a (Rice flour)[a]

| Concentração expressa como As (ng $g^{-1}$) | | | | | Recuperação (%) | Procedimento de extração | Detection |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| As(III) | As(V) | DMA | MMA | Soma das espécies | | | |
| 92 ± 4[b] | | 174 ± 9 | 8 ± 2 | 274 ± 10[c] | 94 | Extração com ácido Trifluoroacético | IC-ICP-MS[142] |
| 87 ± 9[b] | | 168 ± 9 | 12,0 ± 0,2 | 267 ± 7[c] | 92,0 ± 5,2 | Extração com ácido Trifluoroacético | IC-ICP-MS[143] |
| 101 ± 7[b] | | 148 ± 7 | 11,0 ± 0,5 | 260 ± 6[c] | 89 ± 5 | Digestão enzimática com pepsina e pancreatina | IC-ICP-MS[143] |
| 55 ± 1 | 54 ± 3 | 165 ± 8 | 14,8 ± 1,8 | 288 ± 6[c] | 99 | água-metanol (1+1) sob sonicação | HPLC-ICP-MS[138] |
| 67 ± 4 | 39 ± 3 | 158 ± 5 | 13 ± 4 | 277 ± 6 | 96 | Hidrolise enzimática com α-amilasa | IC-ICP-MS[139] |
| 68 ± 4 | 20 ± 2 | 135 ± 4 | 8 ± 1 | 231 ± 6 | 82,3 ± 4,3 | Hidrolise enzimática assistida por ultra-som com protease XIV e α-amilasa | LC-ICP-MS[60] |
| 69 ± 1 | 33 ± 1 | 155 ± 2 | 9,2 ± 0,2 | 267 ± 3 | 92 ± 1 | 1 mol $L^{-1}$ $H_3PO_4$ sob sonicação | HG AFS (este trabalho) |

[a] Valor certificado As total = 0,29 ± 0,02 µg $g^{-1}$.

[b] Nas referencias 10 e 12 o conteúdo de arsênio total inorgânico foi reportado como [As(III)]+[As(V)] pois o arsenato foi parcialmente reduzido a arsenito durante o processo de extração.

[c] Valores não reportados, mas calculados a partir dos dados de referência.

### 5.3.5
### Figuras de mérito

Os valores de limite de detecção (LD) foram calculados a partir de $3s_B/m$, onde $s_B$ é o desvio padrão que foi estimado de 10 medidas de branco nas condições experimentais relativas a obtenção do sistema de equações assim como também considerando a massa da amostra e o fator de diluição envolvido na metodologia. O limite de detecção mais baixo corresponde ao MMA (0,4 ng $g^{-1}$ e 0,6 ng $g^{-1}$ para olerícolas e grãos, respectivamente). Já no caso do As(III), o LD foi de 3,2 e 1,3 ng $g^{-1}$ (para olerícolas e grãos, respectivamente) enquanto que para o As(V) foi de 3 e 0,9 ng $g^{-1}$ (para olerícolas e grãos, respectivamente). Estes limites de detecção são comparáveis a outros obtidos em estudos anteriores de especiação de As por HPLC-ICP-MS entre 0,6 e 1,2 ng $g^{-1}$ [138], 5 e 10 ng $g^{-1}$ [139], 6 e 12 ng $g^{-1}$ [140] e por HPLC-HG-AFS[136] (5 – 8 ng).

Os valores de repetitividade, calculada para um nível de concentração de 1 ng $g^{-1}$ e 7 replicatas, foram 3% para As(III), 5% para DMA, e 6% para As(V) e MMA, valores semelhantes àqueles obtidos por cromatografia[60,61,139,141]. Assim, segundo as figuras de mérito anteriormente citadas, o procedimento desenvolvido é apropriado para a determinação de As(III), As(V), DMA e MMA nas amostras de cereais e vegetais nos níveis naturais de concentração de cada uma delas.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0410485/CA