

## 2. Parte Experimental

### 2.1 Instrumentação

#### 2.1.1 Espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos (HG AFS)

Um espectrômetro de fluorescência atômica modelo PS Analytical Millennium Excalibur (Kent, Reino Unido) foi utilizado para a detecção de As (Figura 4). Como fonte de excitação, foi utilizada uma lâmpada de cátodo oco (BDHCL) com excitação secundária de As, modelo Photron (Victoria, Austrália). Fazem parte do sistema um filtro específico para minimizar a radiação de espalhamento que alcança o detector e uma membrana Perma Pure Dryer System (Shell, Fitting e Membrane), para a secagem do hidreto que alcança o atomizador.

O funcionamento deste espectrômetro baseia-se no bombeamento contínuo de uma solução de redutor, de uma solução carreadora e da amostra ou branco, que confluem para a bobina de reação. Uma válvula eletronicamente controlada permite alternar entre o branco e a amostra, e o bombeamento das soluções é realizado por duas bombas peristálticas. Os hidretos que se formam são separados da fase aquosa no separador gás-líquido e arrastados por argônio até o sistema de secagem Perma Pure (PS Analytical, cat n° H003S001), onde o vapor de água é separado. Este sistema de secagem consiste de dois tubos concêntricos, de 24 cm de comprimento, ligados mediante peças em forma de T, como é mostrado na Figura 6. O tubo interior é uma membrana higroscópica de Nafion e o tubo externo é fabricado em PTFE. Ao passar ao longo da membrana, o gás úmido proveniente do separador gás-líquido perde a umidade, pois o vapor de água se transfere ao tubo externo. O gás de secagem ( $N_2$ ) entra de forma perpendicular e em contracorrente, secando a superfície externa da membrana. Assim secos, os hidretos que são transportados através de um fluxo de gás argônio, atingem o atomizador, constituído por uma chama de difusão de ar-hidrogênio, sendo o hidrogênio proveniente da própria reação de decomposição do  $NaBH_4$  ao entrar em contato com o meio ácido. Este tipo de chama é um atomizador ideal, pois não emite radiação abaixo de 300 nm; no entanto, tem emissões entre 305 e 325 nm, devidas aos radicais OH, que podem ser detectadas pelo fotomultiplicador.

Os átomos formados são então excitados pela radiação proveniente da fonte de excitação, e o sinal de fluorescência atinge o fotomultiplicador e é registrado, como mostra a Figura 5 – resposta típica para o As. Observa-se que o filtro multirefletor isola o comprimento de onda do analito e reduz as emissões devidas à chama que alcançam o detector. Para evitar que ao detector chegue emissão procedente da lâmpada, este se situa a 90° em relação a ela (Figura 7).

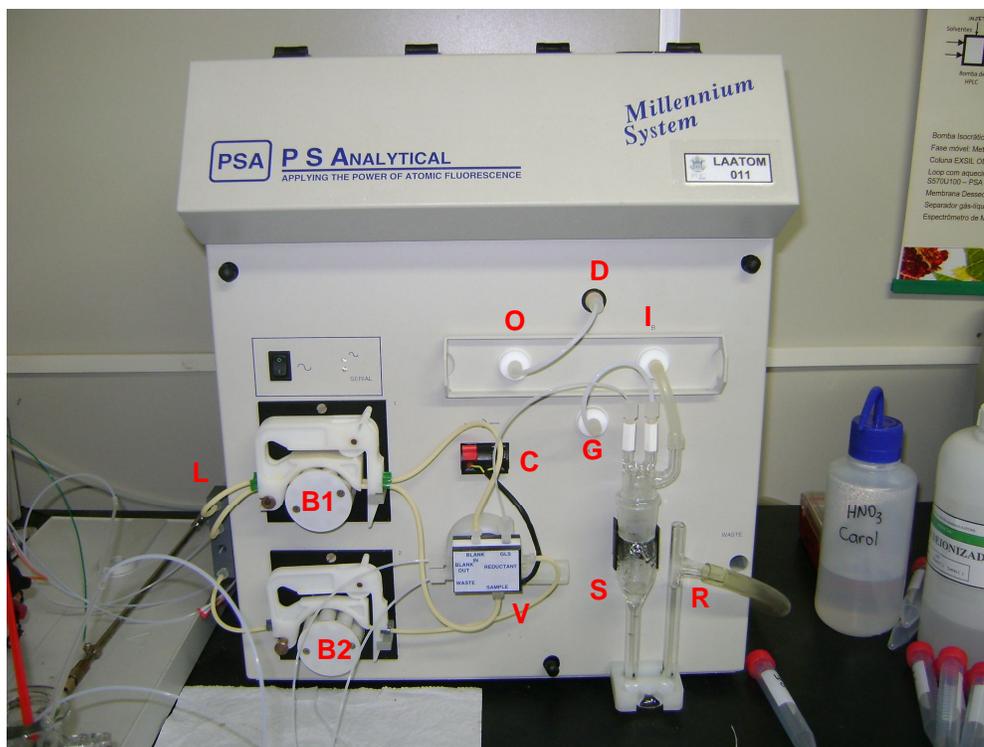


Figura 4. Espectrômetro de Fluorescência Atômica: B1= bomba peristáltica 1; B2= bomba peristáltica 2; L= conexão para reagentes externos, amostra e soluções de reciclagem do branco; C= conexões elétricas para a válvula da amostra; V=válvula da amostra; O= saída do sistema de secagem; I= entrada ao sistema de secagem; D= entrada da amostra para o detector; G= saída do gás carreador; S= separador gás - líquido; R= canal de rejeito.

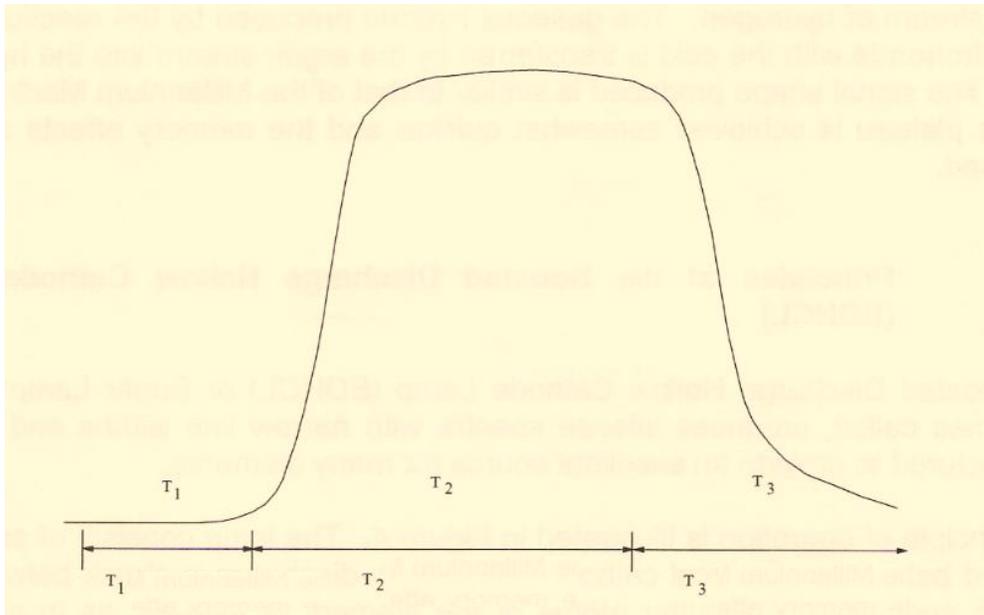


Figura 5. Sinal transiente para o As.

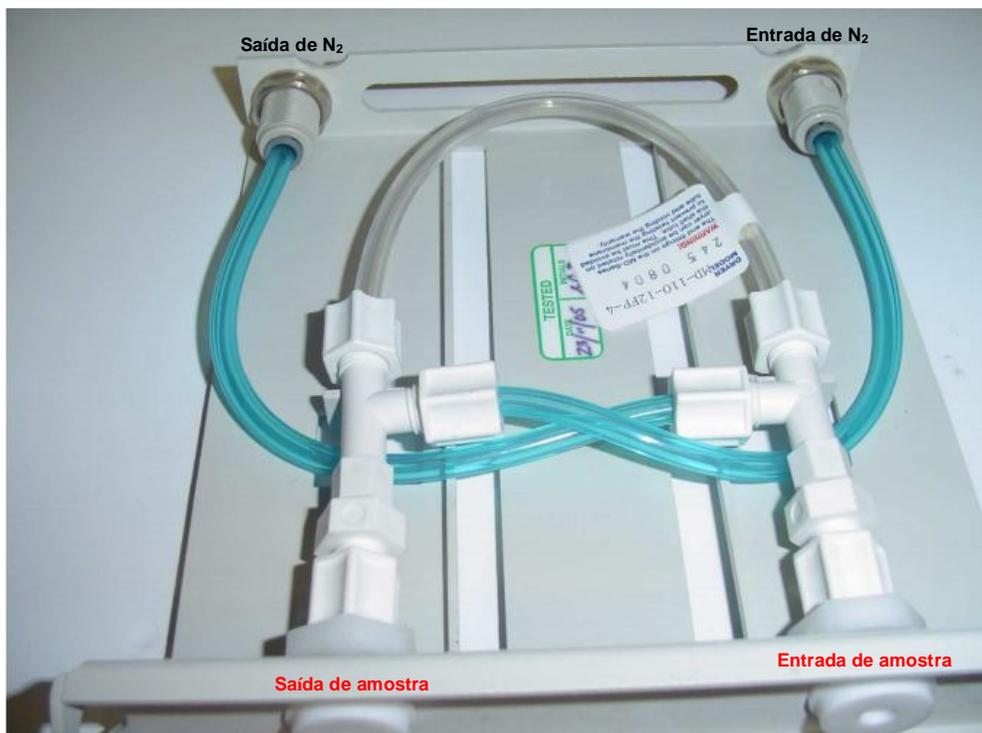


Figura 6. Membrana Perma Pure.

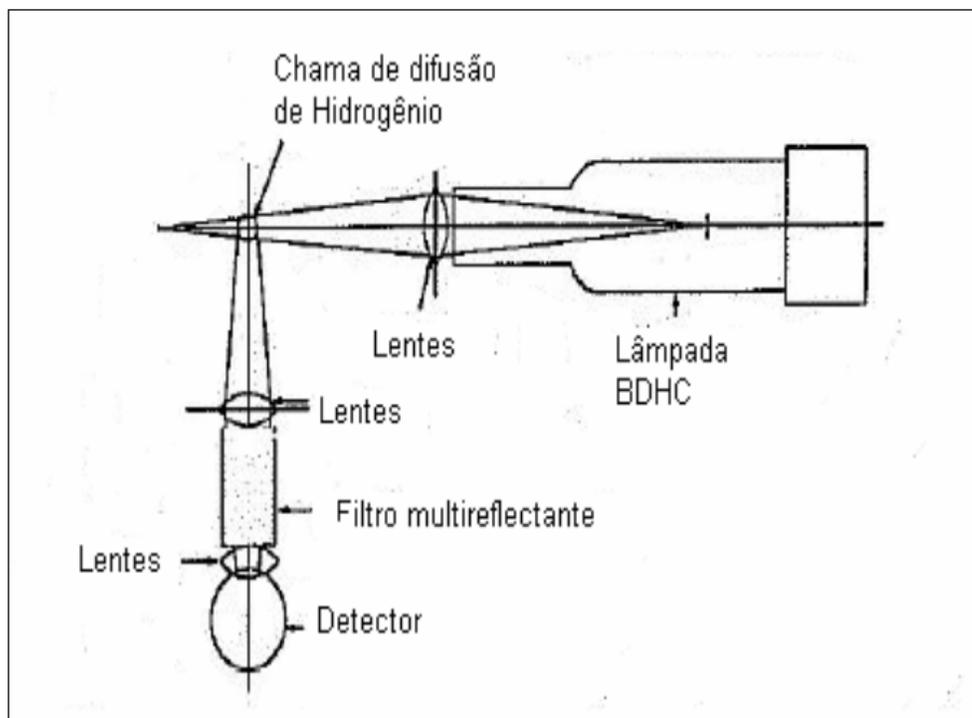


Figura 7. Esquema óptico do aparelho de fluorescência atômica.

## 2.2 Reagentes, soluções e amostras

### 2.2.1 HG AFS

Todos os reagentes utilizados nesse trabalho foram, pelo menos, de grau analítico e todas as soluções preparadas em água ultra pura, (18.2 M $\Omega$  cm), obtida de um sistema ultrapurificador Line Master System P&D (Gehaka, São Paulo, Brazil). Os gases nitrogênio (pureza > 99,90%) e argônio (pureza > 99,99%) (Linde, Rio de Janeiro, Brazil) foram empregados como gás de secagem e transportador, respectivamente.

A solução padrão de As (III) 1000 mg L<sup>-1</sup> foi preparada pela dissolução, após secagem, de As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) em KOH 20% m/v (Vetec), neutralizando-se com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20% v/v e diluindo-se ao volume final com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% v/v. As soluções analíticas aquosas de As foram preparadas por diluição adequada da solução padrão de As (III), com solução de HCl, alcançando a concentração final de 3,5 mol L<sup>-1</sup>.

A solução estoque de HCl 3,5 mol L<sup>-1</sup> foi preparada a partir de HCl supra puro, juntamente com o pré redutor KI 1% m/v e ácido ascórbico 0,2 % m/v. A

solução redutora responsável pela geração dos hidretos consiste em  $\text{NaBH}_4$  1,5% m/v dissolvido em 0,4% m/v de NaOH (todos Vetec), e filtrada antes do uso. Todas as soluções foram preparadas diariamente.

Dois diferentes processos de calibração foram testados: a calibração externa (aquosa) e a adição de analito.

Os materiais de referência certificados utilizados para verificar a exatidão do método desenvolvido foram CASS-4 e NASS-5 seawater, do National Research Council Canada (NRC, Ottawa, Canada), com concentrações de arsênio de  $1,1 \pm 0,16 \mu\text{g/L}$  e  $1,27 \pm 0,12 \mu\text{g/L}$ , respectivamente.

## 2.3 Materiais e métodos

As amostras foram coletadas em garrafas PETs, devidamente higienizadas, e posteriormente transferidas para tubos Sarstedt, preservadas em solução de HCl  $1 \text{ mol L}^{-1}$  supra puro e colocadas no congelador.

O sistema de geração de hidretos do espectrômetro de fluorescência atômica bombeia a solução branco (HCl) e amostra numa vazão otimizada de  $4,5 \text{ mL min}^{-1}$ , precisando de aproximadamente 15 mL para realizar três medições de fluorescência. Com o intuito de otimizar o procedimento de determinação, reduzir o tempo de análise, o consumo de reagentes assim como a geração de resíduos, utilizou-se no sistema a válvula de injeção de amostra, que permite a passagem da amostra somente no momento de análise. A solução branco percorre o caminho e retorna para o frasco, evitando também o desperdício da mesma no instante de análise da amostra. A Figura 8 mostra o funcionamento da válvula para as duas posições, o modo de espera e de injeção.

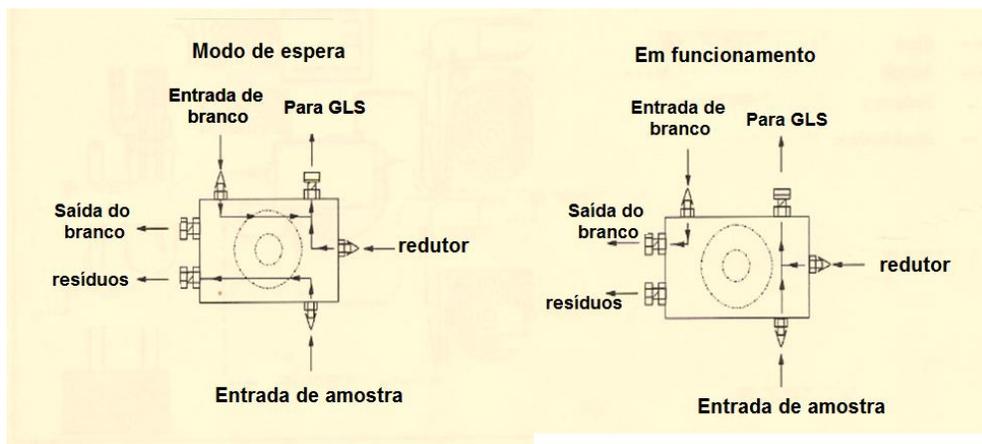


Figura 8. Válvula da amostra

A Figura 9 mostra um esquema de funcionamento do equipamento utilizado para a determinação de As por HG-AFS.

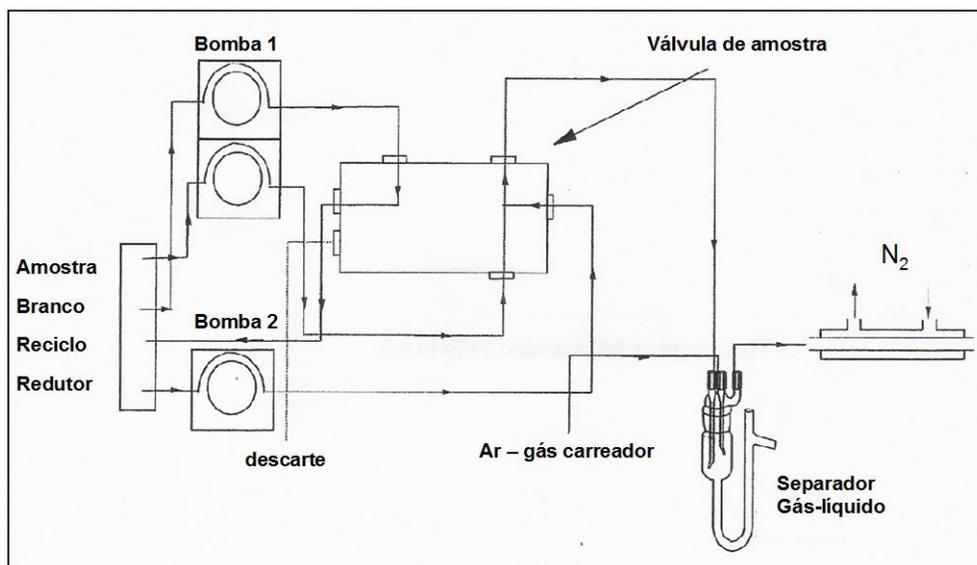


Figura 9. Esquema de funcionamento do HG AFS.

As condições operacionais do equipamento de AFS estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Condições do equipamento AFS.

<b>Condições do método</b>	
Ganho	100%
Modo	Altura de pico
Corrente da lâmpada	27,5 mA (boost 35 mA)
Solução branco	*HCl 3,5 mol/L (4,5 mL/min)
Solução redutora	NaBH <sub>4</sub> 1,5% em NaOH 0,4% (2,2 mL/min)

\* Solução com redutor KI 1%(m/v) e Ácido ascórbico 0,2% (m/v), bem como todas as amostras analisadas.

O ganho em 100% foi escolhido para uma melhor definição no sinal resposta de fluorescência, além disso, o modo de leitura foi escolhido como altura de pico para que a flutuação da linha de base não apresentasse uma mudança significativa no sinal, caso que ocorre frequentemente em leituras em área de pico.

## 2.4 Procedimentos

### 2.4.1 Determinação direta de As no HG AFS

As amostras foram retiradas do congelador até que atingissem a temperatura ambiente, e em seguida uma alíquota de 15 mL foi transferida para um tubo Sarstedt. As amostras foram diluídas na razão 1+1 v/v com uma solução de KI e ácido ascórbico em HCl 5,7 mol L<sup>-1</sup> e avolumadas a 30 mL atingindo concentração final de 1% v/v, 0,2% v/v e 3,5 mol L<sup>-1</sup> respectivamente.

Estudos anteriores [95,96] mostraram, que o As(V) reage com o NaBH<sub>4</sub> mais lentamente em comparação com o As(III), portanto com a intensidade de fluorescência produzida pela espécie pentavalente sendo mais dependente das condições de geração de hidretos, representando ao redor de 50-70% daquela produzida pela espécie trivalente. Tendo como base essa informação, a solução KI/ácido ascórbico foi adicionada previamente à alíquota de análise, com o intuito de reduzir o As(V) a seu estado de oxidação III. A redução de As (V) para As (III) foi alcançada após 30 min, como recomendado num estudo prévio realizado em nosso laboratório [97].

As soluções branco e de calibração (tanto aquosa quanto dentro da própria matriz) foram preparadas de maneira similar, alcançando as mesmas concentrações finais, descritas acima numa faixa analítica de 0 – 0,6  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Após a etapa de pré-redução, as soluções de medição foram submetidas à análise no espectrômetro de fluorescência atômica. Elas foram continuamente misturadas com a solução de agente redutor por meio de bombas peristálticas. A arsina gerada foi separada pelo separador gás líquido (GLS) tipo “ME” (PS Analytical) e levada através da membrana permapure para a atomização / célula de fluorescência por um fluxo de argônio. A célula consistia em uma chama de difusão ar-hidrogênio, mantida pelo excesso de hidrogênio gerado pela acidificação da solução redutora.

Foram estudados alguns parâmetros, tais como vazão do argônio, fluxo dos reagentes nas bombas peristálticas e concentração dos reagentes – HCl e  $\text{NaBH}_4$ , a fim de se alcançar uma melhor resposta para a intensidade de fluorescência.