

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação de Mestrado

Desenvolvimento de método analítico para a quantificação das
frações de arsênio inorgânico em xisto retornado por HG AAS após
extração ácida assistida por ultrassom

Liziane Oliveira de Avila

Pelotas, 2018

Liziane Oliveira de Avila

Desenvolvimento de método analítico para a quantificação das frações de arsênio inorgânico em xisto retornado por HG AAS após extração ácida assistida por ultrassom

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química (ênfase em Química Analítica)

Orientadora: Prof^a. Dra. Adriane Medeiros Nunes

Co-orientadora: Dra. Rosane Martinazzo

Pelotas, 2018.

A banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado intitulada “**Desenvolvimento de método analítico para a quantificação das frações de arsênio inorgânico em xisto retornado por HG AAS após extração ácida assistida por ultrassom**”, de autoria de Liziane Oliveira de Avila.

Data da Defesa: 06 de setembro de 2018

Banca examinadora:

.....
Profa. Dra. Adriane Medeiros Nunes (Orientadora - UFPEl)

.....
Dr. Adilson Luís Bamberg – Pesquisador da Embrapa Clima Temperado

.....
Dra. Daiane Plácido Torres – Analista da Embrapa Clima Temperado

*“E você aprende que realmente pode suportar,
que realmente é forte, e que pode ir muito mais
longe depois de pensar que não se pode mais.”*

(William Shakespeare)

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a toda a minha família pelo incentivo e apoio incondicional. Dedico especialmente a minha princesa, Maria Laura, que me deu forças e esperança para seguir em frente, mesmo com tantas eventualidades pelo caminho. Por ela e para ela que esse trabalho foi realizado.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pelotas, pela possibilidade de execução do trabalho.

Agradeço ao Projeto Xisto Agrícola, parceria técnica entre Petrobras-SIX, Embrapa Clima Temperado e Fapeg, pelo apoio financeiro.

Sempre é dia de agradecer.

Agradeço a Deus por me permitir chegar até aqui com saúde, persistência e determinação.

A minha orientadora, Dra. Adriane Medeiros, pelo apoio e oportunidade de desenvolver o meu trabalho, obrigada.

A minha co-orientadora, Dra. Rosane Martinazzo, pela oportunidade de realização deste trabalho, pelas inúmeras contribuições e valiosos ensinamentos, pela amizade, ajuda, conselhos e pela confiança em mim depositada durante esses anos. De coração, muito obrigada.

Ao Dr. Carlos Augusto Posser Silveira, que é exemplo de dedicação, liderança e amor à pesquisa. Obrigada pela confiança, dedicação e apoio não somente nesse período, mas durante todos os anos de trabalho. Muito orgulho de fazer parte dessa equipe.

À Dra. Daiane Placido Torres, por todo conhecimento compartilhado, pela dedicação, contribuições realizadas e apoio no desenvolvimento desse trabalho. Muito obrigada.

Ao Dr. Eliézer Orestes, em especial, que dedicou horas do seu tempo consertando o equipamento, assim como, os inúmeros conselhos e dicas, sempre com paciência e dedicação. Muito obrigada por tudo e principalmente pelo aprendizado que adquiri. Sem tua ajuda esse trabalho não teria se realizado. Agradeço e te desejo muito sucesso.

A Dra. Meibel Lisboa, pelas contribuições no desenvolvimento do trabalho, pela ajuda na parte experimental e principalmente pela amizade. Sempre disposta a

ajudar a todos e compartilhar seu conhecimento. Muito obrigada e muito sucesso.

Agradeço a Daiane Baldez, primeiramente pela amizade e carinho. Mas, também por me apoiar nesse período, compartilhando conhecimento e me fazendo ter paciência. Obrigada por tudo.

As colegas do laboratório 206 e 211, em especial a Sandy, Janaina e Emanuelle. Obrigada pela amizade, ajuda, risadas e pelo compartilhamento de experiências.

Aos meus pais, minhas irmãs, minha filha e a todos que de uma maneira ou outra me apoiaram, se dedicaram e compartilharam esse momento comigo, serei eternamente grata.

RESUMO

AVILA, Liziane Oliveira. **Desenvolvimento de método analítico para determinação das frações de arsênio inorgânico em suspensão de xisto retornado por HG AAS após extração ácida assistida por ultrassom**. 2018. 75f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Neste estudo foi desenvolvido um método analítico de preparo de amostra para determinação de Arsênio Inorgânico total e suas frações em xisto retornado, utilizando extração ácida assistida por ultrassom (US) e posterior determinação pela técnica de espectrometria de absorção atômica acoplada à geração de hidreto (HG AAS). As variáveis que podem afetar a etapa de geração de hidretos foram otimizadas de forma univariada. O preparo de amostra no ultrassom foi otimizado pelo emprego de planejamentos fatoriais fracionários. As variáveis estudadas foram: concentração do HCl extrator, tempo de US, uso de HF, concentração do pré-redutor KI, concentração do HCl pré-redutor, assim como o tempo de pré-redução de As(V) para As(III). A massa de amostra foi fixada em 0,125 g para todos os experimentos. A partir dos planejamentos foi possível avaliar a extração e também as melhores condições para a determinação das frações de As(III) e As inorgânico total (As(III) mais As(V)), sendo o As(V) obtido pela diferença entre o As inorgânico total e o As(III). A determinação do As(III) foi realizada por meio de controle do pH com uma solução tampão de ácido cítrico/citrato em pH 4,5. Foram obtidos os gráficos normais dos efeitos para a determinação das frações inorgânicas de As. As condições experimentais ótimas foram: HCl extrator 5,0 M, 30' de US, 0,5 mL de HF, 2,0 mL de KI 4,0% em 1,6% de Ácido Ascórbico (m/v), 2,0 mL de pré-redutor HCl 6,0 M e 25' de reação. A faixa linear de calibração foi de 0,25 a 3,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, com coeficiente de correlação linear maior que 0,998 para ambos e limite de quantificação de 3,7 mg kg^{-1} e 1,3 mg kg^{-1} para As(III) e itAs, respectivamente.. A exatidão do método foi verificada por teste de adição e recuperação do analito, em três níveis de adição, as recuperações ficaram entre 101 a 118,5%. O método de extração ácida assistida por ultrassom é uma alternativa simples, rápida e confiável para o preparo de amostras de xisto retornado, permitindo a lixiviação de espécies inorgânicas de arsênio à temperatura ambiente a partir da matriz XR, sem interconversão das espécies de arsênio ou perdas por volatilização. Os parâmetros de mérito obtidos comprovaram a viabilidade do método. Os estudos de exatidão efetuados mostraram resultados confiáveis, com valores de recuperação dos analitos próximos a 100%, e baixos desvios padrão relativos, os quais foram compatíveis com a técnica de HG AAS. As concentrações de arsênio encontradas na amostra de xisto retornado foram de 29,29 g kg^{-1} para itAs, 7,67 mg kg^{-1} para As(III) e 21,62 mg kg^{-1} de As(V), sendo esse, obtido pela diferença entre arsênio inorgânico total e o As(III).

Palavras-chave: Fracionamento de arsênio, Extração ácida assistida por ultrassom, xisto retornado, suspensão, HG AAS

ABSTRACT

AVILA, Liziane Oliveira. **Analytical method development aiming at inorganic arsenic fractionation in retorted oil shale slurry by HG AAS following ultrasound assisted acidic extraction.** 2018. 75p. Thesis (Master of Science in Chemistry) – Chemistry Post Graduation Program. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2018.

An analytical method aiming at inorganic arsenic fractionation in retorted oil shale slurry by atomic absorption spectrometry coupled to hydride technique (HG AAS) following ultrasound (US) assisted acidic extraction was developed. For such, trivalent arsenic measurement counted on sample leachate stabilization with a pH 4.5 citric acid/ trisodium citrate buffer solution prior to reaction with the reducing agent and then analysis by HG AAS. In contrast, total inorganic As determination (itAs - As(III) plus As(V) concentration) in the sample leachate depended on pre-reduction of As(V) to As(III) step of thirty minutes with KI and ascorbic acid solution in semi-concentrated HCl media, previously to the reaction with the reducing agent, followed by HG AAS measurement. In this sense, the concentration of As(V) could be estimated by the difference of total inorganic arsenic and trivalent arsenic concentrations. The parameters of the chemical vapor generation were univariate optimized. Ultrasound based sample preparation optimization counted on factorial designs. The investigated factors for such designs were: HCl concentration; US exposure time of the samples; necessity of HF; KI concentration (as a pre-reducer of As(V) to As(III)); HCl concentration as pre-reducer; as well as the reaction time to accomplish the reduction of As(V) to As(III). Sample mass was 0.125 g for all experiments. From the evaluation of the factorial designs probability plots it was possible to evaluate the feasibility of the analytes extraction from sample matrix as well as the optimal conditions for the inorganic arsenic fractions determination, namely, As(III) or itAs (As(III) plus As(V)), being the As(V) amount estimated as the difference of itAs and As(III). The optimal experimental conditions were: 5.0 M HCl for sample preparation; 30 minutes of US exposure; 0.5 mL of concentrated HF, also for sample preparation; 2.0 mL of 4.0% m/v KI in 1.6% m/v of ascorbic acid; 2.0 mL of 6.0 M HCl as pre-reductor of As(V) to As(III); and 25 minutes of reaction for the As(V) reduction. The calibration range was from 0.25 to 3.0 $\mu\text{g L}^{-1}$, with a correlation coefficient better than 0.998 for both measurements conditions, and a limit of quantification of 3,68 mg kg^{-1} and 1,3 mg kg^{-1} for As(III) and itAs, respectively. The method accuracy was verified by analytes recovery tests, in three concentration levels, which ranged between 101 and 118%. In summary, the ultrasound assisted acidic extraction of retorted oil shale presented as a simple, fast and reliable sample preparation approach, allowing leaching of the arsenic species at room temperature from sample matrix, without interconversion of the inorganic arsenic species nor volatilization losses. Furthermore, the figures of merit as well as the method accuracy assessment attested the suitability of the method. The concentrations of arsenic found in the retorted oil shale sample were 29.29 mg kg^{-1} for itAs 7.67 mg kg^{-1} for As (III) and 21.62 mg kg^{-1} for As (V), estimated by the difference between total inorganic arsenic and As (III).

Keywords: arsenic fractionation, ultrasound assisted acidic extraction, retorted oil shale, slurry, HG AAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fluxograma com as etapas do método proposto para o fracionamento das espécies inorgânicas de arsênio	31
Figura 2 Representação esquemática do sistema de geração química de vapor HVG-1 empregado no presente trabalho	32
Figura 3 Banho ultrassônico utilizado na extração ácida do xisto retornado para a determinação de As por HG AAS.....	38
Figura 4 Amostras de xisto retornado após extração ácida assistida por US.	38
Figura 5 Estudo da concentração de NaBH_4 0,4 (% m/v) na determinação de As(III) por HG AAS. Condições empregadas no estudo: HCl 5,0 M; vazão da amostra $15,0 \text{ mL min}^{-1}$, vazão do ácido carreador e do redutor $6,0 \text{ mL min}^{-1}$; Solução padrão de As(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$	42
Figura 6 Estudo da concentração de HCl na determinação de As(III) por HG AAS. Condições empregadas no estudo: NaBH_4 4,0% (m/v), vazão da amostra $15,0 \text{ mL min}^{-1}$, vazão do ácido e do redutor $6,0 \text{ mL min}^{-1}$. As(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$	43
Figura 7 Curvas analíticas de calibração em meio aquoso de As(III), As(V) e da mistura de As (III) e As(V) e análise por HG AAS.....	44
Figura 8 Estudo do pH da solução tampão citrato/ ácido cítrico para a geração seletiva de hidreto de As(III) por HG AAS em solução padrão mista de As(III) e As(V). Volume de solução tampão empregado de 3,0 mL. Condições NaBH_4 0,4% (m/v) e H_2O	46
Figura 9 Estudo do volume da solução tampão citrato/ácido cítrico para a geração seletiva de hidreto de As(III) a partir de soluções padrão de As(III) e de As(V). Concentração da solução tampão de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Condições NaBH_4 0,4% (m/v) e H_2O	47
Figura 10 Avaliação de curvas analíticas de calibração de As(III) e de As(III) + As(V), em meio de tampão citrato/ ácido cítrico. Condições NaBH_4 0,4% (m/v) e H_2O	48
Figura 11 Estudo da concentração do pré-redutor KI/ácido ascórbico na redução de As(V) para As(III) em solução padrão. Condições: HCl 4,0 M e NaBH_4 0,4% (m/v)	50
Figura 12 Estudo do volume de KI 4,0% m/v em meio de ácido ascórbico 1,6% m/v para a redução quantitativa de As(V) a As(III), em solução padrão dessas espécies de As, e posterior determinação do teor de As inorgânico total por HG AAS.....	51
Figura 13 Curvas de calibração com soluções padrão de As(III) e As(V) com o pré-redutor KI/ácido ascórbico, e solução padrão aquosa de As(III) sem pré-redutor.	52
Figura 14 Gráfico de probabilidade para os efeitos padronizados do planejamento fatorial fracionário 2^{6-2} para a extração assistida por ultrassom do XR e determinação de itAs por HG AAS. US – tempo empregado de ultrassom na amostra.....	54
Figura 15 Gráfico dos valores dos efeitos padronizados para o planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} para a extração assistida por ultrassom do XR e determinação de itAs por HG AAS.	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Planejamento fatorial fracionário 2^{6-2} para a determinação de itAs nas amostras de XR por HG AAS, informados conforme execução experimental (ordem aleatória).	36
Tabela 2 Planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} para a determinação de itAs nas amostras de Xisto Retornado por HG AAS, informados conforme execução experimental (ordem aleatória).....	37
Tabela 3 Condições experimentais do teste para determinação seletiva das frações de As inorgânico em extrato ácido de xisto retornado por HG AAS.	40
Tabela 4 Variáveis otimizadas para geração de hidretos.....	45
Tabela 5 Condições otimizadas para determinação de As (III) e itAs.....	53
Tabela 6 Resultados obtidos no planejamento 2^{6-2} Erro! Indicador não definido.	
Tabela 7 Condições ideais para extração de itAs, baseado no planejamento 2^{4-1}	57
Tabela 8 Resultados obtidos no planejamento 2^{4-1} Erro! Indicador não definido.	
Tabela 9 Resultado das recuperações para o teste dos padrões nas condições otimizadas pelo método.....	58
Tabela 10 Figuras de mérito do método otimizado para determinação das frações de arsênio inorgânico em xisto retornado por HG AAS.	59
Tabela 11 Níveis de concentração adicionado e recuperados para As(III) e itAs nas amostras de xisto retornado, após extração ácida assistida por ultrassom (n=3).....	61
Tabela 12 Teores de As(III) e itAs obtidos na amostra de XR por HG AAS (n=3).....	62
Tabela 13 Teores de As(III), As(V) e itAs na amostra de xisto retornado por HG AAS Erro! Indicador não definido.	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica, do inglês atomic absorption spectrometry
As³⁺	Íon arsenato
As⁵⁺	Íon arsenito
AsB	Arsenobetaína
AsC	Arsenocolina
EPA	agência de proteção ambiental americana (em inglês, <i>Environmental Protection Agency</i>)
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
DMA	Ácido dimetilarsínico
GC	Cromatografia a gás
HG AAS	Espectrometria de absorção atômica acoplada a geração de hidretos
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IC	Cromatografia iônica
IN	Instrução normativa
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MMA	Ácido monometilarsônico
PP	Polipropileno
RSD	Desvio padrão relativo (em inglês, <i>relative standard deviation</i>)
SD	Desvio padrão (em inglês, <i>standard deviation</i>)
DW	Água desionizada
XR	Xisto Retornado

SUMÁRIO

RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XIII
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivos específicos.....	20
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1 Xisto	21
3.1.1 Potencial uso do Xisto retornado na agricultura	22
3.2 Geração química de vapor acoplada a espectrometria de absorção atômica	23
3.2.1 Métodos oficiais para determinação de As total	26
3.3 Procedimento de preparo de amostra	28
3.3.1 Preparo da amostra	28
3.3.2 Extração assistida por ultrassom	28
3.4 Critérios de otimização	30
4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	31
Figura 1 Fluxograma com as etapas do método proposto para o fracionamento das espécies inorgânicas de arsênio em xisto retornado por HG AAS.....	31
4.1 Instrumentação e Acessórios	31
4.2 Reagentes e soluções	33
4.3 Amostras	34
4.4 Sistema de geração química de vapor	34
4.5 Otimização das variáveis para determinação de As(III)	34
4.6 Otimização das variáveis para redução de As(V) a As(III)	35
4.7 Extração de arsênio a partir do xisto retornado	35
4.7.1. Aplicação do método	37
4.8 Estudo de seletividade	39
4.9 Parâmetros de Mérito	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 Otimização das variáveis do sistema de geração de hidreto	41

5.1.1 Otimização da concentração do agente redutor	41
5.1.2 Otimização da concentração do ácido para geração química de vapor.....	42
5.1.3 Fracionamento de As inorgânico.....	45
5.1.4 Otimização do pré redutor para determinação de itAs	49
5.2 Extração de As em xisto retornado.....	53
5.3 Avaliação da seletividade do método nas condições otimizadas	57
5.4 Parâmetros de Mérito	58
5.5 Avaliação da exatidão do método analítico desenvolvido	60
5.5.1 Teste de adição e recuperação.....	60
5.5.2 Determinação de As(III) e itAs nas amostras de XR	61
6. CONCLUSÕES.....	63
8. BIBLIOGRAFIA.....	65

1. INTRODUÇÃO

A dependência de insumos importados utilizados na agricultura representa risco à sustentabilidade da produção agrícola, portanto a busca por fertilizantes alternativos para a inserção nos sistemas produtivos assume grande importância para a agricultura brasileira. Diante disso, pesquisadores do setor agrícola estão realizando estudos com coprodutos gerados nos processos agrícolas e industriais para o reaproveitamento destes como fontes alternativas para a produção de novos insumos, especialmente como fornecedores de nutrientes para o desenvolvimento das plantas. Os coprodutos são passível de serem reutilizados para outros fins, essa possibilidade de reaproveitamento é a principal diferença entre coproduto e resíduo, sendo este último definido como material resultante das atividades ou serviços de uma organização e que, pelas suas características, não apresenta viabilidade técnica, econômica ou ambiental. [1, 2, 3].

A atividade agrícola é essencial para a produção mundial de alimentos e consequentemente para a economia, visto que influencia de forma significativa no desenvolvimento e riqueza (produto interno bruto) do Brasil. No entanto, grande parte dos insumos utilizados no Brasil, especialmente fertilizantes, é de origem estrangeira, o que afeta diretamente os custos de produção e coloca o país em situação de vulnerabilidade e de ausência de soberania alimentar [4]. Há alguns anos estudos comprovam a eficiência de um coproduto gerado na mineração das reservas de folhelho pirobetuminoso (xisto), o xisto retornado, que representa 90% do material restante após a retorta do mesmo. O xisto retornado contém vários elementos de comprovada importância para a nutrição de plantas e para a fertilidade do solo. Estudos indicam que as combinações dos coprodutos com outras fontes de nutrientes tradicionais usadas na agricultura possibilitam aumento da eficiência de uso de nutrientes. Isso se deve à presença de alguns nutrientes como enxofre, potássio, cálcio e magnésio neste coproduto, porém o potencial de fornecimento de nutrientes às plantas pode ser limitado, em função da baixa concentração e solubilidade dos mesmos quando comparados aos fertilizantes atualmente disponíveis no mercado. Mais recentemente trabalhos têm demonstrado que os efeitos mais

pronunciados do XR devem-se à sua estrutura, mineralogia, área superficial específica, porosidade e pH, conferindo-lhe características favoráveis ao fenômeno de sorção, conforme observado em estudos de remoção de contaminantes como óleos e graxas, arsênio, chumbo, mercúrio e corantes e de diminuição da emissão de gases de efeito estufa e da volatilização de amônia [5, 6, 7,] No entanto, esse coproduto pode apresentar elementos potencialmente tóxicos, como arsênio, mercúrio, cádmio e chumbo, podendo contaminar o solo, e conseqüentemente, as plantas [8, 9].

A toxicidade do arsênio, assim como dos outros elementos supracitados, depende de sua forma química e de seu estado de oxidação, os quais apresentam diversos efeitos biológicos e toxicológicos nos seres vivos. O elemento pode se apresentar em formas químicas orgânicas, como o ácido monometilarsônico (MMA), ácido dimetilarsínico (DMA), arsenobetaina (AsB) e arsenocolina (AsC); e inorgânicas formadas por íons arsenato (As^{5+}) e arsenito (As^{3+}). As frações inorgânicas do arsênio são consideradas mais tóxicas que as orgânicas, sendo o arsenito (As^{3+}), a forma mais tóxica e potencialmente carcinogênica, seguida pelo arsenato (As^{5+}) [10].

Devido às mais diversas formas dos elementos associando-se aos efeitos tóxicos que cada um apresenta, começou a surgir a importância da determinação da espécie química do elemento, ao invés da determinação de teores totais. Especificação é o termo utilizado para descrever as formas em que um elemento está distribuído em uma amostra, sendo a determinação das diferentes espécies chamada de análise de especificação. Logo, na análise de especificação, dois aspectos precisam ser considerados: primeiro, deve-se ter certeza de que está sendo determinada uma espécie e não a outra, ou o somatório delas; segundo, o limite de detecção da técnica empregada para a detecção do analito deve alcançar níveis de concentração similares ou superiores aos esperados em uma amostra real [11].

Técnicas instrumentais como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), cromatografia iônica (IC), cromatografia a gás (GC), espectrometria de absorção atômica (AAS), plasma indutivamente acoplado (ICP) e técnicas espectrofotométricas como UV-Vis têm sido amplamente utilizadas em estudos de especificação. Porém, na maioria das vezes, o uso de uma única técnica instrumental não possibilita a determinação das diferentes espécies de um

elemento, tornando assim necessário o uso destas técnicas de maneira acoplada, como por exemplo, a geração de hidretos (HG) acoplada à espectrometria de absorção atômica (AAS) [12].

A espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS) está baseada na formação de espécies gasosas na forma de hidretos voláteis, produzidos em solução, adicionando-se à amostra acidificada uma solução de um redutor apropriado. Após a formação dos hidretos, estes são conduzidos a um atomizador (normalmente um tubo de quartzo aquecido). A HG AAS é uma técnica adequada à determinação de elementos em concentrações baixas, dentre as quais, pode-se destacar a possibilidade de separação do analito da matriz da amostra e, assim, reduzir ou, até mesmo, eliminar várias interferências. Além disso, as interferências provenientes de metais de transição podem ser minimizadas pelo uso de elevadas concentrações ácidas ou pelo uso de pequenas quantidades do agente redutor [13].

Por sua vez, a aplicação das técnicas espectrométricas descritas acima requer, na grande maioria dos casos, um pré-tratamento da amostra, a fim de convertê-la em uma forma adequada para introdução nos equipamentos analíticos. A etapa de pré-tratamento da amostra pode ser considerada a etapa crítica do processo analítico, uma vez que requer um gasto de tempo elevado e está sujeita a problemas, tais como, a contaminação das amostras e perdas do analito durante a manipulação das amostras. No caso de amostras sólidas, diferentes procedimentos têm sido adotados para a sua conversão em uma forma líquida, apropriada para injeção nos instrumentos. Sem dúvida, a digestão ácida, seja por aquecimento convencional ou utilizando-se radiação micro-ondas, é o mais popular dos métodos de dissolução de amostras sólidas. O problema é que estes procedimentos, além de laboriosos, são lentos (principalmente quando o aquecimento convencional é utilizado) e exigem o manuseio de reagentes tóxicos e corrosivos. A digestão de amostras sólidas também pode ser realizada por via seca, seja através do aquecimento direto das amostras ou na presença de fundentes [13, 14, 15, 16].

Nesse sentido o desenvolvimento de métodos de preparo de amostras que possibilitem a utilização de menores quantidades de reagentes, temperaturas brandas e que não necessite de equipamentos onerosos ou

sofisticados é extremamente importante. A utilização da extração assistida por ultrassom é uma alternativa para o preparo de amostras, sendo um procedimento simples e rápido. Assim, este método vem sendo utilizado para a extração de elementos traços em amostras biológicas e ambientais para a posterior determinação por diversas técnicas analíticas [17, 18, 19].

A Instrução Normativa nº 5, publicada pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) em 10 de Março de 2016, que regulamenta o uso de remineralizadores e condicionadores de solo, estabelece apenas os teores totais dos elementos potencialmente tóxicos nos produtos. Diante do exposto, é necessário o desenvolvimento de métodos simples e confiáveis para a determinação não somente do teor total de elementos potencialmente tóxicos, como o As, mas também das suas espécies em rochas que poderão ser utilizadas como insumos agrícolas, pois dará suporte a normativa estabelecendo as especificações e garantias mínimas desses produtos. Assim como, de uma rede de laboratórios que faça esse tipo de análise como rotina, garantindo os quesitos de segurança ambiental e dos alimentos, bem como eficiência agronômica.

2. OBJETIVOS

Desenvolver um método analítico, simples e confiável, para determinação das frações de arsênio inorgânico em amostras de xisto retornado por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS), após extração ácida assistida por ultrassom.

2.1 Objetivos específicos

- Desenvolver um procedimento de extração confiável, simples, rápido e eficiente para as espécies inorgânicas de As, a partir da matriz xisto retornado, empregando banho ultrassônico e que não provoque a interconversão dessas espécies
- Otimizar as condições para a determinação do teor de arsênio inorgânico total (As^{3+} mais As^{5+}) em xisto retornado por HG AAS;
- Otimizar as condições para a determinação da fração de arsênio inorgânico trivalente (As^{3+}), em xisto retornado por HG AAS (sendo a concentração da espécie pentavalente obtida pela diferença entre o teor de As inorgânico total e o teor da espécie trivalente);

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Xisto

O folhelho pirobetuminoso, informalmente conhecido como xisto, é uma rocha de origem sedimentar que contém querogênio, o qual pode ser extraído como óleo e gás, em condições de alta temperatura e alta pressão (processo de pirólise ou retortagem). O querogênio é constituído basicamente de longas cadeias aromáticas condensadas, alcanos e ácidos graxos. A composição mineral do xisto varia em concentrações de quartzo, feldspatos, argilas (principalmente illita e clorita), carbonatos (calcita e dolomita), pirita e outros minerais [20, 21, 22]. O xisto cru (ou bruto) possui elementos como Ca, Si, K, S e Fe, de interesse para a agricultura [23].

O Brasil é o segundo maior produtor de xisto, atrás apenas da formação de Green River, localizada nos Estados Unidos. A Petrobras trabalha para o aproveitamento do xisto brasileiro, através do desenvolvimento e consolidação de uma tecnologia denominada Processo Petrosix®, a principal característica dessa tecnologia é sua simplicidade operacional. Atualmente a exploração e processamento do xisto ocorrem na Unidade de Industrialização do Xisto (SIX), em São Mateus do Sul – PR, onde se produzem óleo e gás em condições de alta temperatura e alta pressão, além de outros coprodutos [24, 25].

Depois de minerado a céu aberto, o xisto passa por um britador a fim de adequar sua granulometria às condições ideais de processamento. Os fragmentos abaixo dos limites requeridos são chamados de finos de xisto e os fragmentos de dimensões adequadas são levados a um reator, ou retorta, onde são pirolisados a uma temperatura de aproximadamente 500 °C, liberando-se a matéria orgânica a partir dos fragmentos sob a forma de óleo e gás, o que representa 10% em massa do xisto que entra na retorta. O material restante que sai da retorta, após a separação dos produtos de interesse é denominado xisto retornado (XR) e representa 90% da matéria-prima de alimentação do processo de extração e processamento da rocha, cuja produção diária é da ordem de 5000 toneladas [26].

3.1.1 Potencial uso do Xisto retornado na agricultura

Atualmente, o XR retorna à mina, porém a sua composição química e mineralógica torna esse coproduto uma matéria-prima promissora para a formulação de insumos agrícolas [26]. Vários estudos relacionados à aplicação do XR ao solo sob cultivo demonstraram bons resultados em relação ao seu uso combinado com fertilizantes e condicionadores de solo, sem prejuízos ao meio ambiente e à segurança dos alimentos, conforme citações abaixo.

Em um experimento adicionando doses crescentes de XR ao solo com cultura de tomateiro, Pereira e colaboradores [27] concluíram que essa adição não causou variação de pH e contribuiu para a adição de S e Si ao solo e às folhas de tomateiro. Verificaram ainda, um aumento na disponibilidade de P ao meio.

Em estudo semelhante, utilizando a cultura de milho como referência, Chaves e colaboradores [28] relataram que a adição de XR ao solo aumentou a soma de bases trocáveis e dos teores de S e Si, porém, as doses de XR adicionadas não foram suficientes para influenciar o crescimento do milho.

Embora o xisto retornado e outros coprodutos do xisto apresentem elementos traços em sua composição, no estudo realizado por Silveira e colaboradores [29] com o desenvolvimento de duas variedades de batatas cultivadas em solo condicionado com coprodutos do xisto, os autores não detectaram alterações nas concentrações desses elementos.

Doumer e colaboradores [30] avaliaram a ação do XR sobre várias enzimas do solo. Segundo os autores, esse coproduto não provoca degradação biológica do solo. O estudo também possibilitou verificar a redução da emissão de CO₂, indicando que a adição do XR pode ser uma estratégia para preservar o C do solo, já que a matéria orgânica é física e quimicamente protegida pela estrutura do XR, evitando a perda de C.

Da mesma forma, ao estudar a ação conjunta da adição de XR e resíduos culturais no solo, Leão e colaboradores [31] constataram que o XR possibilita maior retenção do C adicionado a partir desses resíduos culturais, mais especificamente das folhas. Em comparação com adição somente das folhas ao solo, a adição de XR aumentou em 21% a retenção de C no solo.

O estudo realizado por Giacomini, verificou a redução da remoção de gases do efeito estufa e da volatilização de amônia em processo de compostagem, utilizando dejetos líquidos de suínos em combinação com xisto retortado[5].

Segundo os estudos supracitados, o XR tem um alto potencial como insumo na agricultura, o que permite um destino útil, nobre e seguro para esse coproduto. Contudo, a legislação dos remineralizadores (IN 05/2016) e dos fertilizantes minerais (IN 27/2006) consideram como limite máximo o teor total de As de 20 mg kg⁻¹ e 10 mg kg⁻¹, respectivamente. A IN 27/2006 foi atualizada em 2016 e incluiu o Cr⁶⁺ além do Cr total como limites em fertilizantes orgânicos. Nesse contexto é importante a inclusão o As³⁺ na IN dos remineralizadores, pois o teor total de As nas rochas não fornece informação suficiente sobre a toxicidade das espécies presentes na matriz.

3.2 Geração química de vapor acoplada a espectrometria de absorção atômica (CVG AAS)

A propriedade que alguns elementos como As, Bi, Ge, Pb, Sb, Sn, Se e Te possuem de formarem hidretos voláteis à temperatura ambiente, possibilitou o desenvolvimento da técnica de geração de hidretos, que se popularizou quando acoplada principalmente à espectrometria de absorção atômica. Esse acoplamento, HG AAS, permitiu um ganho de sensibilidade na determinação destes elementos, principalmente pela melhora na eficiência do transporte dos analitos ao atomizador e também devido à redução ou mesmo a eliminação de interferências, uma vez que apenas o analito forma a espécie volátil que é transportada para cela de atomização, e a matriz da amostra permanece na fase condensada [32].

O precursor dessa técnica foi Holak (1969) [33] com um trabalho em que o As foi reduzido à arsina (AsH₃) pela adição de zinco metálico, um redutor, em uma amostra acidificada. A espécie volátil do elemento de interesse, formada pela reação com um agente redutor, é transportada com o auxílio de um gás inerte de arraste, e também pelos outros vapores gerados na reação com o redutor até a chama a fim de ser atomizada. Entretanto, a

atomização do arsênio usando chama convencional de ar/acetileno, apresenta dificuldades, pois há uma forte absorção da chama em comprimentos de ondas menores que 200 nm, onde se encontram as linhas mais sensíveis do arsênio.

Esse inconveniente foi corrigido três anos depois por CHU e colaboradores (1972) [34] por um procedimento alternativo, onde a arsina produzida era carregada pelo argônio não mais para a chama, mas para uma célula de absorção formada por um tubo T, de quartzo, eletricamente aquecido, postado ao longo do caminho óptico do equipamento de absorção atômica. Dessa maneira, se evitaria a absorção de parte da radiação da fonte primária, aumentando a intensidade da radiação que alcançava o detector, o que contribui para uma melhora considerável no limite de detecção, já que o vapor permaneceria por um maior tempo na cela.

O uso de redutores metálicos, possibilitava a geração de hidretos de poucos elementos (basicamente AsH_3 e SeH_2), o que delimitava o uso da técnica, além disso, os sinais para os brancos analíticos eram elevados, as medidas pouco reprodutíveis e altos tempos de reação eram requeridos, dificultando a automação da técnica [34].

Essa situação foi contornada por Braman e colaboradores ainda em 1972, com a introdução de soluções de tetrahidroborato de sódio (NaBH_4) estabilizadas em meio básico, ampliando assim, o uso desse agente redutor para outros elementos que geram hidretos. A eficiência do NaBH_4 , na formação dos hidretos, e a possibilidade de ser empregado tanto por sistemas de análise em batelada quanto por sistemas em fluxo, visto sua rápida cinética de reação e maior reprodutibilidade, qualquer que seja o método de detecção, fez com ele se tornasse o agente redutor mais empregado na geração química de vapor [35].

Essa técnica pode ser conectada a outros sistemas de detecção para determinação de As, tais como espectrometria de fluorescência atômica (AFS) [36, 37] espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS) [38, 39], espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) [40, 41] e espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) [42, 43]

É necessário otimizar algumas variáveis químicas para a geração química de vapor, concentração e tipo de ácido e a concentração do redutor (NaBH_4), pois estas interferem diretamente na sensibilidade do método [44].

O primeiro mecanismo descrito de geração de hidreto [45] indica que o processo de formação do hidreto ocorre a partir da evolução de hidrogênio atômico, também chamado de hidrogênio nascente, que é formada através da hidrólise ácida do agente redutor [42]. Outros mecanismos foram propostos por outros autores que discordam com a hipótese de formação do hidreto a partir do hidrogênio nascente. Sabe-se hoje que o mecanismo de formação do hidreto ocorra através da ação do hidrogênio ligado diretamente ao boro, por formação de alguns intermediários [46, 47, 48, 49]. De acordo com essa hipótese, o processo pode ser escrito da seguinte maneira, conforme equação 1 e 2 [46]:



O uso de reagentes deuterados em vários trabalhos tem demonstrado que o hidrogênio ligado diretamente ao boro é o responsável pela formação do hidreto. Em um destes estudos com reagentes deuterados [45], foi observado que a reação de As (III) e As (V) com NaBD_4 em HCl 3 mol L^{-1} e H_2O foi obtida como principal produto AsD_3 e quando utilizou-se NaBH_4 em DCl e D_2O , foi obtido como principal produto o AsH_3 . Assim, os autores puderam afirmar que a arsina foi produzida a partir da transferência do hidrogênio ligado diretamente ao boro. Segundo os autores, caso estivesse o hidrogênio nascente envolvido no processo de geração do hidreto, o principal produto seria $\text{AsH}_n\text{D}_{3-n}$.

Depois de formado e separado dos concomitantes por um separador gás-liquido, o hidreto é transportado com auxílio de um gás carregador inerte, como o argônio, até a célula de atomização. A célula de atomização mais utilizada em HG AAS consiste de um tubo atomizador de quartzo (QTA, do inglês *quartz tube atomizer*), em formato de T, aquecido externamente por uma chama ar/acetileno, com temperaturas internas que variam entre 800 a 1000 °C e alinhado ao caminho ótico, no qual os hidretos formados, juntamente com o

gás carregador são levados, por meio do braço central, para o interior do tubo aquecido. As vantagens de se utilizar esse tipo de atomizador consistem na obtenção de baixos limites de detecção e sinal de fundo, além de alta sensibilidade (relacionada à qualidade da superfície interna do tubo de quartzo, onde ocorre a atomização) [42, 43, 50, 51].

Mesmo havendo a separação do analito a partir da matriz, minimizando a possibilidade de interferências, estas ainda podem ocorrer em diferentes etapas do processo de geração química de vapor: na fase líquida e na fase gasosa. Na fase líquida, as interferências podem acontecer durante a formação do hidreto ou ainda no momento em que ele é liberado da solução e, nesse caso, o estado de oxidação do analito é um aspecto importante a ser considerado, já que espécies com maior estado de oxidação (As(V) em relação ao As(III), por exemplo), possuem menor velocidade de redução. Por esse motivo, a etapa de pré-redução torna-se necessária, pois assegura que o hidreto transportado até a célula de atomização seja aquele formado a partir do As(III), responsável por gerar sinais analíticos mais intensos e mais rapidamente que o hidreto de As(V). Outro aspecto que deve ser considerado é a concentração dos ácidos inorgânicos empregados no preparo das amostras, pois concentrações elevadas podem levar à oxidação do As(III) a As(V), o que leva à diminuição do sinal analítico para As [42, 43, 52, 53].

3.2.1 Métodos oficiais para determinação de As total

A instrução normativa SDA Nº 24, 2007, do MAPA, reconhece alguns métodos para determinação de elementos potencialmente tóxicos em fertilizantes, corretivos agrícolas, condicionadores de solo e substrato para plantas, como aqueles da agência de proteção ambiental americana (United States Environmental Protection Agency - U.S.EPA) [54, 55, 56].

Um dos métodos reconhecidos na normativa do MAPA é o método US EPA 7061-A – *Arsenic (atomic absorption, gaseous hydride)*, que trata da técnica HG AAS para a determinação de As em amostras de resíduos, solos e águas subterrâneas. No entanto, os métodos US EPA 3050-B e 3051 para o preparo de amostras visando a determinação de vários elementos químicos

também são indicados pelo MAPA. O método 3050-B trata da digestão das amostras em frascos abertos, com HNO_3 e HCl concentrados e também H_2O_2 . Esse método é extremamente laborioso, favorece perdas do analito por volatilização e aumenta os riscos de contaminação. Já o método 3051, se refere à digestão das amostras em meio de HNO_3 concentrado ou de água régia invertida ($\text{HNO}_3\text{:HCl}$ na proporção 3:1), empregando forno com radiação micro-ondas em frascos sob pressão [53, 54, 55, 56]. Esse procedimento proporciona o controle da temperatura, emprega altas pressões, com risco reduzido de contaminações devido ao ambiente de trabalho e perdas do analito por volatilização, além de reduzir o tempo de preparo. Entretanto, a digestão de amostras em frascos fechados assistida por micro-ondas geralmente implica em altos fatores de diluição das amostras, requer um tempo de espera relativamente longo para que os frascos possam ser abertos (até que os mesmos tenham atingido a temperatura próxima da temperatura ambiente), além do alto custo de aquisição e manutenção do equipamento [53, 54, 58].

Apesar da alta confiabilidade dos métodos descritos anteriormente, todos utilizam grandes volumes de ácidos concentrados para o preparo de amostras, o que é incompatível com os princípios da química verde [53]. Adicionalmente, o uso de ácidos concentrados pode ser antagônico com procedimentos para extração de espécies de elementos potencialmente tóxicos, visto que os mesmos podem causar oxidação ou interconversão das mesmas. Deste modo, o uso de ácidos diluídos e banho ultrassônico é alternativa promissora em relação aos meios convencionais de digestão e/ou extração de amostras, proporcionando maior segurança (baixas temperaturas e pressão atmosférica), maior confiabilidade dos resultados, menor consumo de reagentes e menor geração de resíduos.

Após ampla busca na literatura, não foram encontrados trabalhos que reportem o uso de ácidos diluídos na digestão de rochas, por isso o desenvolvimento de novos procedimentos de preparo de amostras de rochas passíveis de uso como insumo agrícola, frente aos métodos reconhecidos pelo MAPA, pode favorecer o aperfeiçoamento das metodologias já existentes, ou o desenvolvimento de novas metodologias (que é o caso do presente trabalho), contribuindo para minimizar a geração de custos e de resíduos, além de simplificar a rotina em laboratório.

3.3 Procedimento de preparo de amostra

3.3.1 Preparo da amostra

A preparação da amostra é geralmente necessária em análises químicas para converter os analitos em uma forma detectável via análise instrumental, para separá-los da matriz da amostra ou para concentrar espécies para a determinação de elementos traços. Essa etapa é geralmente a mais criteriosa em análise química, tendo em vista os riscos de perdas do analito, contaminação da amostra e decomposição incompleta da amostra ou extração incompleta do analito. Além dessas fontes de erros sistemáticos, a preparação da amostra é, com frequência, a etapa mais demorada nos procedimentos analíticos. Isso contrasta com o avanço de técnicas instrumentais modernas que melhoraram significativamente a capacidade de detecção e reduziram o tempo de análise. Apesar desse progresso, o tratamento da amostra ainda é em geral necessário para melhorar a seletividade, minimizar efeitos de matriz e para transformar a amostra em uma forma compatível com o sistema de introdução de amostra do equipamento, os quais são majoritariamente construídos para introdução de amostras na forma líquida [58].

As metodologias mais usadas para extração de espécies de As são auxiliadas por aquecimento, agitação mecânica e Soxhlet [55, 56]. No entanto, em muitos processos de extração são requeridos grandes volumes de solventes e várias horas para completar a extração, tornando os métodos demorados e tediosos [59, 60]. Por outro lado, técnicas relativamente novas como, extração assistida por ultrassom (UAE), extração assistida por micro-ondas (MAE), extração acelerada por solvente (ASE) e extração por fluido supercrítico (SFE) requerem menor volume de solvente, diminuem o tempo de extração e podem ser automatizadas [60, 61, 62, 63, 64].

3.3.2 Extração assistida por ultrassom

A determinação da concentração total de um elemento em uma amostra é realizada em geral pela completa destruição da matriz. Todavia, para a

análise de especiação, essa decomposição pode afetar as espécies de interesse, nesse caso as espécies devem ser extraídas da amostra de forma quantitativa e, principalmente, de forma a evitar a sua destruição e/ou interconversão [65, 66]. Desta forma, a etapa de preparo das amostras é crucial na análise de especiação química, sendo que a escolha do solvente e a técnica de extração de suma importância.

Nesse cenário, a extração assistida por ultrassom vem se destacando como uma técnica atrativa e simples de preparo de amostra, rápida, segura e de baixo custo, capaz de promover a dissolução quantitativa dos elementos de interesse. Os procedimentos de extração, quando comparados aos procedimentos de digestão por via úmida e via seca, estão menos sujeitos a problemas com os brancos analíticos, apresentam menor risco de perdas de elementos voláteis, além de diminuir o manuseio da amostra, os fatores de diluição das amostras, o custo (devido aos baixos volumes de reagentes), o tempo de preparo e a geração de resíduos. Proporciona, ainda, maior segurança ao analista, pois não utiliza condições tão drásticas no preparo de amostra [67, 68, 69 70].

O preparo de amostra com ultrassom é um processo que utiliza a energia de ondas sonoras que são transmitidas em frequência superior à capacidade auditiva do ouvido humano. Estas ondas sonoras criam uma única vibração que causa uma variação na pressão no líquido gerando a cavitação, que se trata da formação, crescimento e implosão de microbolhas de gás, o que resulta em pontos com gradientes extremamente altos de temperatura e pressão. Essas microbolhas entram em colapso e implodem, produzindo um jato líquido que pode atingir uma velocidade acima de 360 Km h^{-1} . Este fenômeno, em que a cavitação ocorre próximo da superfície da partícula ou na própria superfície, promove a solubilidade do analito e difusão do solvente dentro das partículas sólidas. A superfície é renovada e, conseqüentemente, mais analito entra em contato com o solvente [69, 70, 71, 72, 73].

Diversos estudos podem ser encontrados na literatura utiliza extração assistida por ultrassom para o preparo de amostra visando a determinação de arsênio em diferentes amostras. Perin e colaboradores [74] utilizaram o ultrassom para extrair As e Se em solos que receberam a aplicação de remineralizadores, fonolito e xisto retornado, como fontes de nutrientes.

Cavalcante [75] desenvolveu estratégias analíticas para a determinação de arsênio e selênio em amostras de alimentos por HG AFS (espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidreto), utilizando banho ultrassônico no preparo das amostras. Leite e colaboradores [76] utilizaram a técnica de extração assistida por ultrassom para a determinação de As, Cd, Cr, Pb e Se em fertilizantes de base orgânica. Esses estudos reforçam o poder desta ferramenta de preparo de amostra, tendo em vista, sobretudo, tempo e custos reduzidos e maior sensibilidade do método.

3.4 Critérios de otimização

As otimizações das variáveis experimentais no desenvolvimento de um método analítico são importantes para que se atinjam condições ótimas de trabalho. Habitualmente, são utilizados procedimentos que avaliam o efeito de uma variável por vez para objetivar a otimização de variáveis experimentais, porém esse método impede o estabelecimento de níveis ótimos verdadeiros dos parâmetros avaliados. A utilização de sistemas multivariados de otimização, dentre eles o sistema de planejamento fatorial, permitem avaliar simultaneamente o efeito de um grande número de variáveis, a partir de um número reduzido de ensaios experimentais. Com essa ferramenta é possível avaliar os efeitos sinérgicos e antagônicos (ou seja, interação entre os fatores avaliados experimentalmente), já que em sistemas químicos as variáveis costumam interagir e, se esse fato for ignorado, o processo de otimização pode apresentar pouco valor.

4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Um fluxograma é apresentado na Figura 1 para demonstrar as etapas do método proposto para a determinação de itAs (As(III) + As(V)) e As(III). O uso do iodeto de potássio (pré redutor) em ácido ascórbico em meio (HCl 6,0 M) é necessário para reduzir a espécie de arsênio pentavalente a sua espécie trivalente, visto que As(III) apresenta cinética de reação mais rápida em uma ampla faixa de pH. O arsênio pentavalente gera hidreto com maior eficiência quando presente em meio com o $\text{pH} \leq 1$, para contornar esse problema é necessário elevar o pH com o uso de uma solução tampão, a fim de inibir a geração do hidreto a partir do As(V).

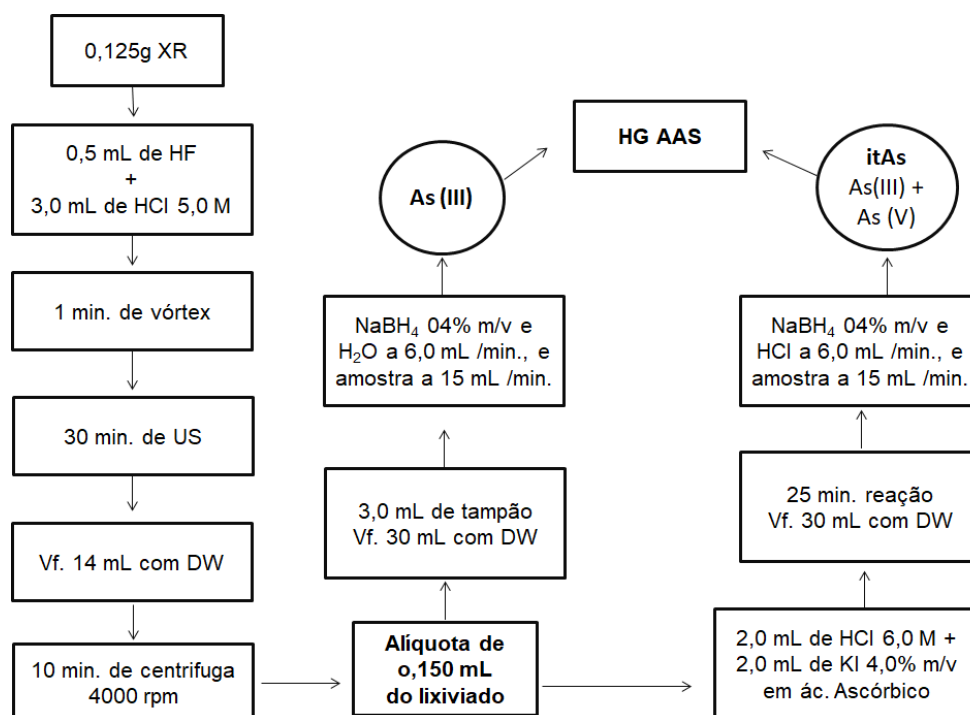


Figura 1 Fluxograma com as etapas do método proposto para o fracionamento das espécies inorgânicas de arsênio em xisto retornado por HG AAS.

4.1 Instrumentação e Acessórios

A quantificação de arsênio foi realizada utilizando um espectrômetro de absorção atômica com chama, modelo AA-6300 (Shimadzu, Japão), equipado com acessório de geração química de vapor, modelo HVG-1, do mesmo fabricante. A Figura 2 mostra a representação esquemática do sistema de

geração química de vapor, onde uma bomba peristáltica realiza a propulsão da amostra, do ácido ou água carreador de amostra e do redutor em um fluxo contínuo. Através de uma confluência, a amostra é acidificada e em seguida entra em contato com o redutor. Essa mistura é carregada para a bobina de reação, que promove a homogeneização da amostra com os reagentes, a saber, ácido clorídrico e tetrahidroborato de sódio, onde ocorre a geração do hidreto ou vapor elementar (no caso de mercúrio, por exemplo). Antes da bobina de reação, um fluxo de argônio é introduzido no sistema, a fim de facilitar a separação do vapor do analito formado da fase líquida. A mistura é então carregada para um separador gás-líquido, onde a fase líquida é drenada e a fase gasosa contendo o hidreto gerado é transportada por um fluxo auxiliar de argônio para uma célula de quartzo, com aquecimento contínuo em chama de ar/acetileno, colocada sobre o queimador do espectrômetro de absorção atômica, onde ocorrem as etapas de atomização e absorção da radiação emitida pela fonte.

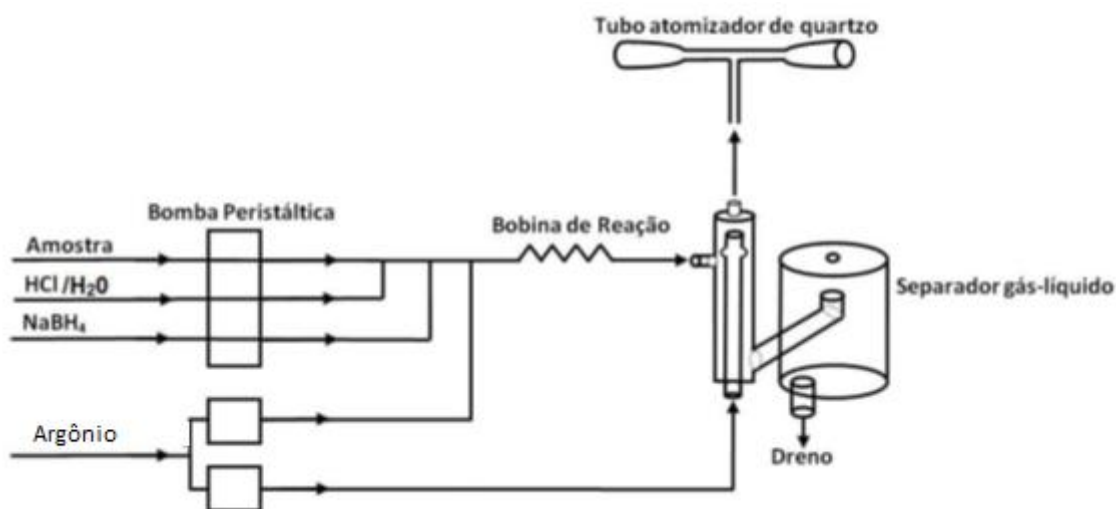


Figura 2 Representação esquemática do sistema de geração química de vapor HVG-1 empregado no presente trabalho [77].

Para correção do sinal de fundo, foi empregada uma lâmpada de deutério, e como fonte de radiação utilizou-se lâmpada de catodo oco de arsênio (Hamamatsu Photonics K.K, Japão). As condições de análise do HG AAS foram: comprimento de onda 193,7 nm, largura da fenda 0,7 nm, corrente de 12 mA, vazão de ar e acetileno de 15,0 e 2,0 L min⁻¹, respectivamente

(acetileno com pureza de 99,7%, Linde, Barueri, Brasil) . As condições do sistema HVG-1 para geração de hidreto foram: fluxo de amostra de 15,0 mL min⁻¹ e de 6,0 mL min⁻¹ para HCl e NaBH₄; bobina de reação de 100 cm; Argônio com uma pureza de 99,996% (Linde) foi usado como gás de arraste para os analitos a uma pressão de 400 kPa. Para a determinação do arsênio, foi utilizada uma célula de quartzo com comprimento de percurso de 147 mm e diâmetro de 24 mm. Área de pico foi utilizada para avaliação de sinal.

O ajuste do pH para o preparo da solução tampão foi feito utilizando um medidor de pH da marca PHTek, modelo PHS-3B, equipado com eletrodo de vidro combinado e sensor de temperatura. Um vortex da marca VELP científica foi utilizado para a homogeneização das amostras, antes e durante a extração. Um ultrassom modelo Elma sonic E 30 (H), com poder ultrassônico efetivo de 140 W e frequência ultrassônica de 37 KHz (Elma, Singen, Alemanha), e um centrifugador excelsa baby, da marca FANEM LTDA, foi utilizado para a decantação dos sólidos da suspensão gerada após a etapa de exposição da amostra ao US. Todas as amostras foram pesadas utilizando um balança analítica Ohaus Adventurer, modelo AR 2140 (Pine Brook, NJ, EUA), com uma resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g.

4.2 Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico. Para o preparo das soluções utilizou-se água desionizada, obtida a partir de um sistema de destilação em vidro, modelo MA078/5 (Marconi, Brasil) e, posteriormente, eluída em um desionizador modelo CS1800 Evolution (Permution, Brasil). Os frascos plásticos para preparo e armazenamento das soluções bem como as vidrarias foram descontaminados em banho de HNO₃ 10% (v/v) por no mínimo 48 horas. Posteriormente, o material foi lavado várias vezes com água deionizada e, em seguida, seco a temperatura ambiente.

As soluções padrão de arsênio foram Arsênico (III) Padrão para ICP, 1002 mg L⁻¹ (Sigma Aldrich) e H₄AsO₃ 1000 mg L⁻¹ (Sigma Aldrich). As soluções de trabalho foram preparadas por diluições apropriadas a partir das soluções estoque. Como agente redutor foi utilizado tetraidroborato de sódio

(NaBH_4 , Fluka Analytical), preparado no momento da análise na concentração de 0,4%, estabilizado em meio de 0,5% (m/v) de NaOH (Vetec).

Ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$, Sigma Aldrich) e citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Vetec) foram utilizados para o preparo da solução tampão. Para a redução do As(V) a As(III) foi utilizada uma solução de iodeto de potássio (KI, Synth), preservada em ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, Vetec).

Para preparo da amostra no ultrassom foram utilizadas soluções de HCl, o que foi preciamente bidestilado (Qhemis) em um destilador de quartzo abaixo do ponto de ebulição MA-075 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) . Uma solução de HNO_3 2,8 M (Vetec) com HF 0,3 M (Sigma Aldrich) foi utilizada para realizar a limpeza da célula de quartzo e do separador gás/líquido.

4.3 Amostras

As amostras de xisto retornado utilizadas neste trabalho foram cedidas pela Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS). Esse coproduto é proveniente do processamento do folhelho pirobetuminoso (xisto) da formação de Irati em São Mateus Sul (Paraná) e apresenta diâmetro de partícula menor que 0,3 mm. O anexo I apresenta o laudo de uma análise química feita pela ACME Analytical Laboratories Ltd, Vancouver (Canadá). No laudo consta o teor de As encontrado nessa rocha, descrito como amostra 81. A amostra utilizada nesse estudo é proveniente do mesmo lote, da amostra analisada pelo laboratório da ACME.

4.4 Sistema de geração química de vapor

As variáveis que podem influenciar na etapa de geração de hidretos, como concentração do ácido e do agente redutor, foram otimizadas de forma univariada. A otimização foi executada com solução de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III).

4.5 Otimização das variáveis para determinação de As(III)

Para a determinação de As(III), foi avaliado o pH mais adequado da solução de ácido cítrico com citrato de sódio, e após, o volume dessa solução

necessário para a geração de hidreto. Para tanto, foram utilizadas soluções de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) e de As(V). Para este estudo foram utilizadas as condições otimizadas do método (NaBH_4 0,4% m/v e HCl 5,0 M) conforme discussão posterior, exceto a linha do ácido, que foi substituída por água, uma vez que o meio ácido para formação da arsina a partir do As(III) será proveniente da solução de ácido cítrico/ citrato de sódio, pois em pH entre 4,0 e 5,0 a formação de hidreto de As(V) é quantitativamente suprimida. A curva de calibração foi preparada nas mesmas condições da amostra.

4.6 Otimização das variáveis para redução de As(V) a As(III)

Um estudo para otimização da concentração do pré redutor KI utilizado para redução de As(V) a As(III) foi realizado. Assim como, um estudo com diferentes volumes da solução redutora. Nesta etapa também foram utilizadas soluções de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) e de As(V), e as condições otimizadas do método: NaBH_4 0,4% m/v e HCl 5,0 M .

4.7 Extração de arsênio a partir do xisto retornado

Com a finalidade de obter a extração quantitativa do arsênio total a partir do xisto retornado, um planejamento fatorial fracionário 2^{6-2} foi aplicado. Nesse experimento foi possível avaliar a extração e também as melhores condições para a determinação das frações de As(III) e As inorgânico total (As(III) mais As(V)), sendo o As(V) obtido pela diferença entre o As inorgânico total e o As(III). O planejamento fatorial contou com três pontos centrais, e foi avaliado no programa STATISTICA 7. As variáveis estudadas foram: concentração do HCl extrator, tempo de US, uso de HF, concentração do pré-redutor KI, concentração do HCl pré-redutor, assim como o tempo de pré-redução. A tabela 3 apresenta os níveis avaliados para tais parâmetros. A massa de amostra utilizada não foi avaliada, pois o XR apresenta concentração consideravelmente alta de As e, portanto, foi fixada em 0,125 g para todos os experimentos.

O planejamento contou com as variáveis utilizadas para a redução da espécie pentavalente, testadas previamente com as soluções padrão de As(III)

e de As(V), o que será discutido posteriormente, a fim de confirmar sua eficácia em meio a matriz da amostra. Após os experimentos e avaliação dos dados foram fixados os níveis ótimos das variáveis, nos quais o itAs fosse extraído de forma quantitativa, porém sem interconversão das espécies. A Tabela 1 apresenta as variáveis e os níveis estudados no planejamento fatorial.

Tabela 1. Planejamento fatorial fracionário 2^{6-2} para a determinação de itAs nas amostras de XR por HG AAS, informados conforme execução experimental (ordem aleatória).

Experimento	HCl extrator (M)	US (min)	HF (mL)	Reação* (min)	HCl redutor (M)	KI (% m/v)
6	7	0	0,5	10	3	4
12	7	60	0,0	30	3	2
5	5	0	0,5	10	6	4
10	7	0	0,0	30	6	4
8	7	60	0,5	10	6	2
16	7	60	0,5	30	6	4
1	5	0	0,0	10	3	2
15	5	60	0,5	30	3	4
3	5	60	0,0	10	6	4
7	5	60	0,5	10	3	2
4	7	60	0,0	10	3	4
2	7	0	0,0	10	6	2
13	5	0	0,5	30	6	2
11	5	60	0,0	30	6	2
9	5	0	0,0	30	3	4
14	7	0	0,5	30	3	2
PC1	6	30	0,25	20	4,5	3
PC2	6	30	0,25	20	4,5	3
PC3	6	30	0,25	20	4,5	3

US – tempo de ultrassom; M – molaridade; PC – ponto central; Reação – tempo de reação para pré-redução de As(V) para As(III), visando a determinação do teor de As total. Condições: NaBH_4 0,4% m/v e HCl 4,0 M a 6,0 mL/min. e amostra a 15 mL /min.

Embora o planejamento fatorial fracionário 2^{6-2} avaliado tenha alcançado as condições ótimas para a extração de itAs no XR, ou seja, houve a extração quantitativa do analito sem a interconversão das espécies de As, conforme será discutido posteriormente, foi realizado um segundo planejamento fatorial, com o objetivo de simplificar ainda mais a metodologia para o fracionamento de As inorgânico em XR. As variáveis concentração do HCl extrator e também do

HCl redutor foram fixadas e as demais sofreram alterações, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 Planejamento fatorial fracionário de refinamento 2^{4-1} para a determinação de itAs nas amostras de xisto retornado por HG AAS, informados conforme execução experimental (ordem aleatória).

Experimento	HF (mL)	KI (% m/v)	Reação (min)	US (min)
5	0,5	3	25	30
4	0,75	4	10	0
1	0,5	3	10	0
7	0,5	4	25	0
3	0,5	4	10	30
6	0,75	3	25	0
2	0,75	3	10	30
8	0,75	4	25	30
PC 1	0,6	3,5	17,5	15
PC 2	0,6	3,5	17,5	15
PC 3	0,6	3,5	17,5	15

US – tempo de ultrassom; M – molaridade; PC – ponto central; Reação – tempo de reação para pré-redução de As(V) para As(III), visando a determinação do teor de As total. Condições: NaBH_4 0,4% m/v e HCl 4,0 M a 6,0 mL/min. e amostra a 15 mL /min.

4.7.1. Aplicação do método

De acordo com as condições consideradas ótimas para a amostra, estas foram pesadas em triplicata, diretamente em frascos volumétricos de polipropileno (PP). Após, fez-se a adição dos ácidos: 3 mL de HCl 5 M e 0,5 mL de HF concentrado, e os frascos foram submetidos a vortex por 1 minuto, e em seguida foram transferidos para o banho ultrassônico. As amostras foram sonicadas à temperatura ambiente, com os frascos semiabertos, para possível alívio da pressão, conforme é mostrado na Figura 3.



Figura 3 Banho ultrassônico utilizado na extração ácida do xisto retortado para a determinação de As por HG AAS.

Após 30 minutos de exposição ao ultrassom, as amostras foram avolumadas a 14 mL com água desionizada e levadas a centrifuga por 10 minutos, a 4000 rpm. O aspecto final das amostras após esse processo é apresentado na Figura 4. Como pode ser observado, a amostra apresentou coloração amarronzada e material em suspensão. Embora as amostras de XR visualmente não tenham ficado límpidas após a etapa de extração, não foi constatado problemas na exatidão da extração dos analitos, uma vez que a mesma foi comprovada por testes de adição e recuperação do analito.

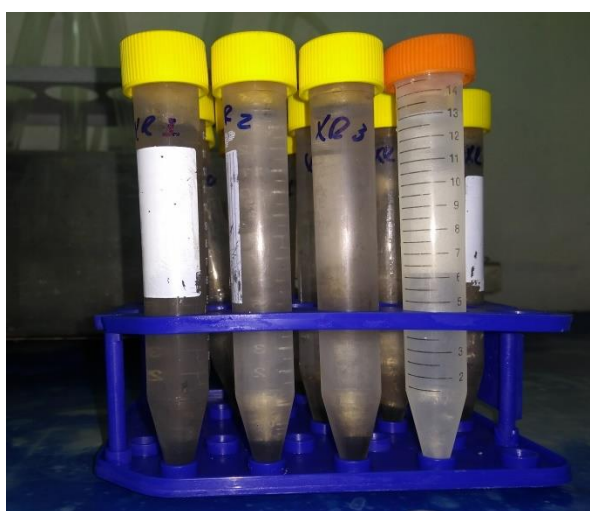


Figura 4 Amostras de xisto retortado após extração ácida assistida por US.

Das amostras anteriormente avolumadas para 14 mL foi realizada uma segunda diluição: uma alíquota de 0,15 mL foi transferida para um frasco de PP de 50 mL, juntamente com 2 mL de KI 4,0% m/v e 2,0 mL de HCl 6,0 M, para a determinação de itAs. As amostras foram deixadas em repouso por 25 minutos para que ocorresse a redução completa do As(V) a As(III), antes da aferição do volume final das amostras para 30 mL. Para a determinação do teor de As (III) no XR, em outro frasco de PP de 50 mL, foi adicionada à uma alíquota de 0,15 mL do lixiviado de XR, 3,0 mL de solução tampão ácido cítrico/citrato e o volume de amostra foi imediatamente aferido para 30 mL. Os brancos analíticos e as soluções padrão para as curvas de calibração para As(III) e itAs foram preparadas nas mesmas condições que as amostras.

Visto que não existe material de referência certificado de composição similar ao xisto retornado, a exatidão do método foi verificada por teste de adição e recuperação do analito, em três níveis de adição, conforme descrito no item 5.5.1. Além da análise de uma amostra do mesmo lote de XR por um laboratório acreditado na norma ISO/IEC 17025.

4.8 Estudo de seletividade

Foi feito um estudo de seletividade com soluções de As(III) e As(V) de diferentes concentrações, e também de ambas as espécies na mesma solução, com concentrações variadas de cada espécie de As inorgânico, para investigar se as condições otimizadas para o método de fracionamento de As inorgânico estavam mantendo a integridade das espécies, sem que houvesse perda dos analitos ou interferências nas suas medidas. A Tabela 3 apresenta essas informações. Os experimentos foram executados em duplicata, com o uso de solução tampão de ácido cítrico e citrato, e da solução pré-redutora de KI e ácido ascórbico. As curvas de calibração foram feitas nas mesmas condições.

Tabela 3 Condições experimentais do ensaio para determinação seletiva das frações de As inorgânico em extrato ácido de xisto retornado por HG AAS.

Solução	As(III) $\mu\text{g L}^{-1}$	As(V) $\mu\text{g L}^{-1}$
1	2,5	0
2	2,0	0,5
3	1,25	1,25
4	0,5	2,0
5	0	2,5

4.9 Parâmetros de Mérito

Os parâmetros de mérito avaliados neste trabalho foram linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e veracidade, efeitos de matriz/interferências e robustez.

A linearidade foi avaliada pelo cálculo do coeficiente de determinação da curva de calibração (R^2). Foram consideradas como satisfatórias as curvas com valores de R^2 maiores ou iguais a 0,995. Para a obtenção dos valores dos limites de detecção e de quantificação do método, foram analisados os brancos analíticos e os mesmos foram calculados de acordo com as definições descritas no item 5.4.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Otimização das variáveis do sistema de geração de hidreto

Após a otimização das variáveis do sistema de geração de hidreto, usando planejamentos fatoriais fracionários para a determinação da espécie trivalente, pré-redução da espécie pentavalente de As para As(III), e posterior determinação de As inorgânico total, foram obtidos os gráficos normais dos efeitos para a determinação das espécies inorgânicas de As. A partir de tais gráficos é possível avaliar os efeitos dos fatores experimentais investigados e suas significâncias para o processo [82].

5.1.1 Otimização da concentração do agente redutor

Para otimizar a concentração do agente redutor para a geração de hidreto de As(III), a saber, NaBH_4 , a faixa de concentração de 0,05 a 1,0% m/v foi estudada, e o resultado pode ser observado na Figura 5. A concentração de HCl de 5 M usada para a otimização da concentração do redutor NaBH_4 foi a sugerida pelo fabricante do equipamento. Conforme pode ser visto na Fig.5, a absorvância integrada aumentou até 0,4% m/v da concentração do agente redutor, e a partir daí houve uma queda no sinal analítico. Essa queda do sinal analítico provavelmente se deve ao excesso de NaBH_4 no meio, o qual em meio ácido, formará uma série de compostos voláteis (hidroboranos) que aumentam a pressão do sistema e levam à dispersão, e consequente diluição, da arsina formada. Dessa forma, para garantir a precisão e máxima sensibilidade da análise, bem como economia de reagentes, a concentração de NaBH_4 de 0,4% m/v foi adotada para as próximas etapas do trabalho.

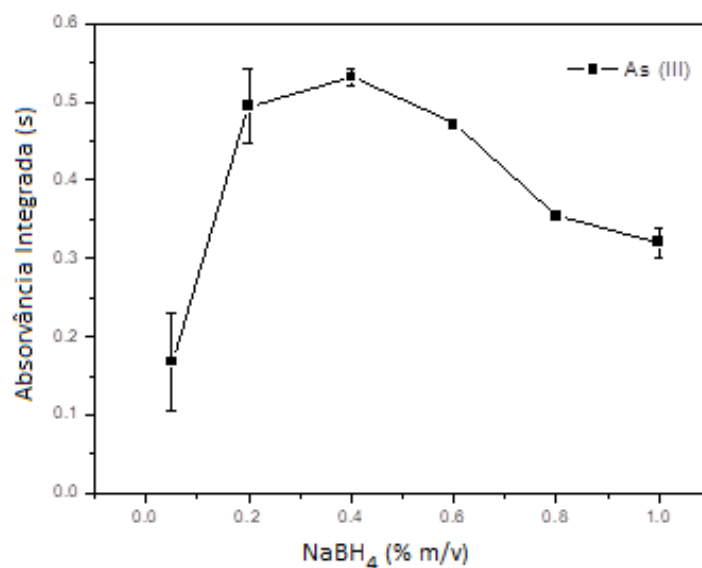


Figura 5 Estudo da concentração de NaBH_4 0,4 (% m/v) na determinação de As(III) por HG AAS. Condições empregadas no estudo: HCl 5,0 M; vazão da amostra $15,0 \text{ mL min}^{-1}$, vazão do ácido carreador e do redutor $6,0 \text{ mL min}^{-1}$; Solução padrão de As(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

5.1.2 Otimização da concentração do ácido para geração química de vapor

A concentração de ácido clorídrico suficiente para que haja reação quantitativa das espécies do analito com o agente redutor é discutida na literatura da geração química de vapor [82]. A figura 5 apresenta o estudo de HCl no presente trabalho. Apesar da concentração de 6 M ter apresentado o maior sinal analítico, houve também um aumento na dispersão dos resultados (desvio padrão mais alto). As concentrações de 4 M e 5 M de HCl também implicaram em alta sensibilidade, entretanto com maior repetitividade (desvios padrão baixos). Desta forma, a concentração de 4 M foi adotada para realizar os próximos experimentos, sem que houvesse perda significativa na sensibilidade e, adicionalmente, diminuindo o custo da análise pela economia de HCl .

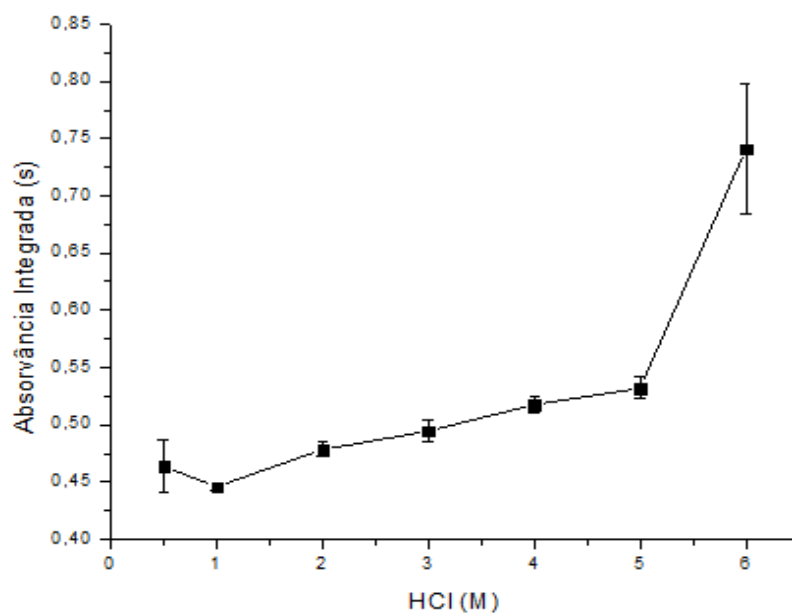


Figura 6 Estudo da concentração de HCl na determinação de As(III) por HG AAS. Condições empregadas no estudo: NaBH_4 4,0% (m/v), vazão da amostra $15,0 \text{ mL min}^{-1}$, vazão do ácido e do redutor $6,0 \text{ mL min}^{-1}$. As(III) $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Conforme mencionado anteriormente, apesar de as espécies trivalente e pentavalente de arsênio terem a capacidade de reagir com um agente redutor, como o tetraidroborato de sódio, e formar espécies voláteis passíveis de determinação por HG AAS, sabe-se que a cinética de formação do hidreto de As(III) é favorecida em relação à formação de hidreto de As(V) [79]. A fim de avaliar essa característica da velocidade da reação na formação dos hidretos, sob as condições otimizadas para o sistema de geração química de vapor (a saber, HCl 4 M e NaBH_4 0,4% m/v), foram construídas curvas de calibração em meio aquoso, conforme Figura 7, utilizando soluções padrão das espécies de As(III), As(V) e uma combinação de ambas as espécies na mesma concentração.

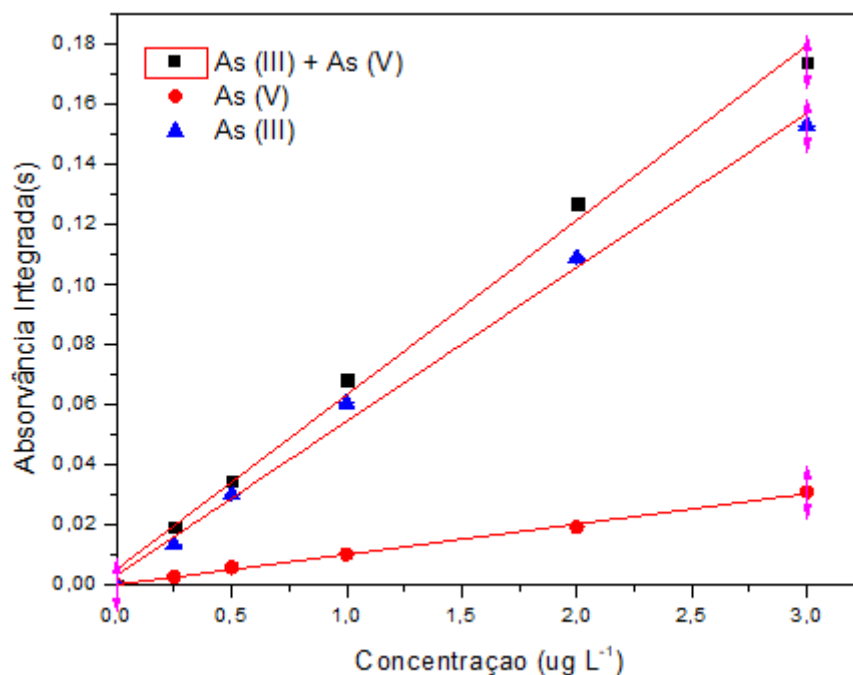
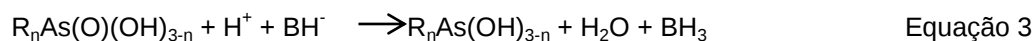
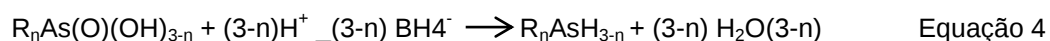


Figura 7 Curvas analíticas de calibração em meio aquoso de As(III), As(V) e da mistura de As (III) e As(V) e análise por HG AAS.

Conforme observado no gráfico da Figura 7, nas condições otimizadas, a espécie de As(V) foi quantificada, entretanto com sinal analítico menor em relação ao As(III). Isso ocorre porque a formação do hidretoarsano a partir do As(V), utilizando NaBH₄, ocorre em duas etapas. Na primeira etapa ocorre a pré-redução do ácido arsênico (H₃AsO₄), que reage com o BH₄⁻ em meio ácido, formando o ácido arsenoso (H₃AsO₃), conforme a Equação 3.



Na segunda etapa o ácido arsenoso formado na primeira reação, reage novamente com o NaBH₄, formando o AsH₃, conforme a Equação 4, e este é atomizado pela chama do espectrômetro. Portanto para que todo o As(V) seja convertido em AsH₃ são requeridas altas concentrações de tetraborato, na presença de concentrações altas de ácido.



Onde R_n é o número de radicais metila.

O ácido arsênico, espécie de As(V) reativa com NaBH_4 , formada na primeira etapa só é encontrado em pH próximo ou menor a 1. Quando as espécies de arsênio estão em um meio onde o pH está mais elevado, a primeira etapa de pré-redução do ácido arsênico à ácido arsenoso pode ser evitada uma vez que o As(V) se encontra na forma de diidrogenoarsenato (H_2AsO_4^-), espécie que possui uma carga negativa, e por isso repele a espécie também negativa do redutor BH_4^- . Dessa forma, na presença de BH_4^- todo o AsH_3 será proveniente da espécie de As(III), o que garante a separação das espécies de arsênio inorgânico, pois o tampão fará a supressão quantitativa do As(V).

Na Tabela 4 é apresentado um resumo das otimizações feitas para as variáveis e suas faixas estudadas, bem como os valores selecionados para realização das análises.

Tabela 4 Variáveis estudadas e condições adotadas para geração de hidreto de As (III) em solução padrão.

Variável	Faixa estudada	Valor adotado
NaBH_4 (% m/v)	0,05 – 1,0	0,4
HCl (M)	0,5 – 6	4

5.1.3 Fracionamento de As inorgânico

Para a determinação das frações de As inorgânico, soluções padrão de As(III) e de As(V) foram preparadas em meio de solução tampão de citrato/ácido cítrico. O emprego de solução tampão para a geração seletiva de hidreto de espécies de arsênio é destacada na literatura [82, 83]. Foram estudadas nesta etapa soluções de diferentes proporções de citrato e de ácido cítrico, as quais geraram os valores de pH na faixa de 3,5 a 6,0, conforme mostrado na figura 8. Pode se observar que somente o As(III) apresenta sinal analítico significativo em valores de pH acima de 4,5, a partir do qual o sinal da espécie

volátil de As(V) se manteve próximo ao valor do sinal do branco analítico. Esse fato ocorre porque a molécula H_3AsO_4 , espécie de As(V) que reage com o redutor NaBH_4 , existe apenas em pH bastante ácido, majoritariamente próximo de 1,0. Na faixa estudada, praticamente todo o As(V) se encontra na forma de H_2AsO_4^- , espécie não reativa com o NaBH_4 . Conforme demonstrado no gráfico, o sinal da espécie volátil de As(III) aumentou a partir do pH 4,5 até o valor máximo de pH avaliado. Entretanto, como não houve diferença significativa de ganho de sensibilidade, optou-se por utilizar o pH 4,5. Dessa forma, pelo emprego da solução tampão com pH mantido em 4,5, foi possível obter a geração seletiva do hidreto da espécie de As(III), com inibição da formação da espécie volátil de As(V).

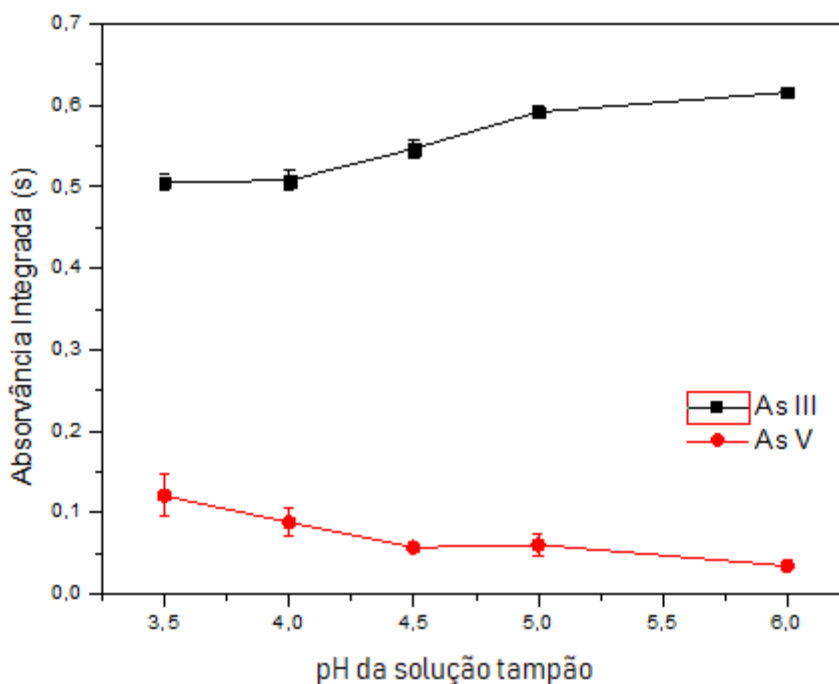


Figura 8 Estudo do pH da solução tampão citrato/ ácido cítrico para a geração seletiva de hidreto de As(III) por HG AAS em solução padrão mista de As(III) e As(V). Volume de solução tampão empregado de 3,0 mL. Condições NaBH_4 0,4% (m/v) e H_2O

Após a otimização do pH da solução tampão, foi estudado o volume desta solução de pH 4,5 mais adequado para a geração seletiva do hidreto de As(III), a fim de diminuir o consumo de reagentes e consequentemente, o custo da análise, garantindo assim, que toda espécie pentavalente seja suprimida.

Na Figura 9 pode-se observar que nenhuma das espécies de As estudadas apresenta sinal analítico com o uso de 1 mL da solução tampão. A partir de 2 mL de solução tampão, o sinal aumentou significativamente, sendo 3 mL de solução tampão o volume ideal para medir As(III) com a máxima sensibilidade e inibição quantitativa de qualquer sinal para As(V).

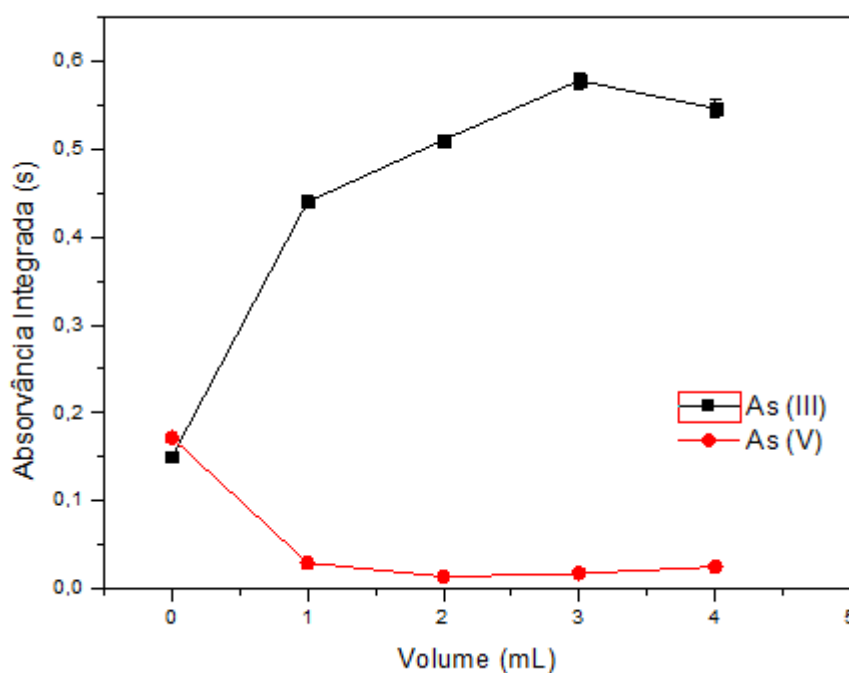


Figura 9 Estudo do volume da solução tampão citrato/ácido cítrico para a geração seletiva de hidreto de As(III) a partir de soluções padrão de As(III) e de As(V). Concentração da solução tampão de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Condições: NaBH_4 0,4% (m/v) e DW como carreadores com vazões de $6,0 \text{ mL /min}$ e amostra com vazão de 15 mL /min

Utilizando as condições otimizadas para a determinação do As(III), foram construídas duas curvas de calibração analíticas: uma contendo somente a espécie de As(III) e a outra contendo ambas as espécies de As(III) e As(V), utilizando 3 mL de solução tampão como meio diluente dos padrões (Figura 10).

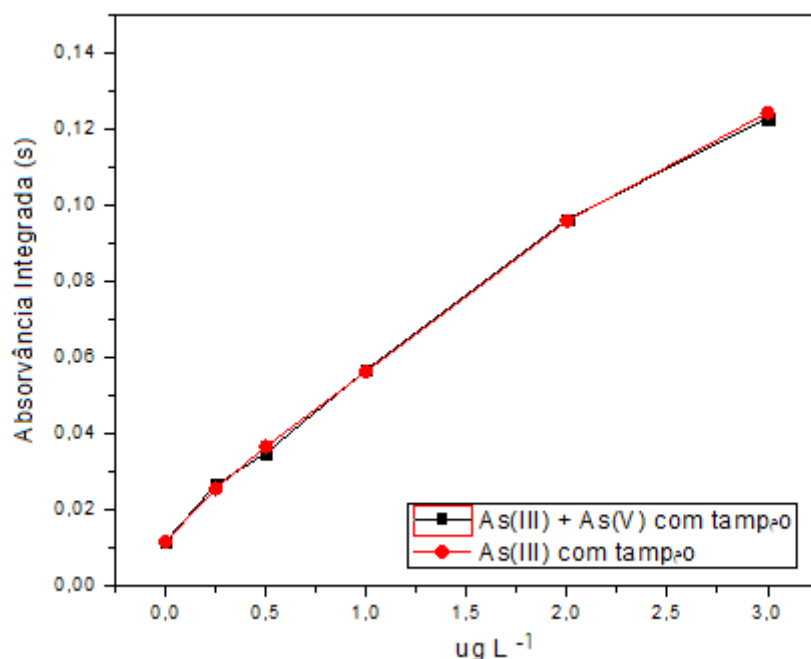


Figura 10 Avaliação de curvas de calibração de As(III) e de As(III) + As(V), em meio de tampão citrato/ ácido cítrico. Condições NaBH_4 0,4% (m/v) e DW como carreadores com vazões de 6,0 mL /min e amostra com vazão de 15 mL /min.

As equações obtidas para a regressão dessas curvas analíticas foram:

$$\text{Absorvância} = 0,0372 \times C_{\text{As(III)}} + 0,0047 \quad (\text{Curva com As(III)}) \quad \text{Equação 5}$$

$$\text{Absorvância} = 0,0375 \times C_{\text{As(III)}} + 0,0046 \quad (\text{Curva com As(III) e As(V)}) \quad \text{Equação 6}$$

Onde $C_{\text{As(III)}}$ é a concentração analítica de As(III), em $\mu\text{g L}^{-1}$.

Pela avaliação dos valores dos coeficientes angular (inclinação) e linear (intercepto) obtidos para as duas equações de ajuste de modelo, pode-se inferir que não houve diferença significativa entre esses parâmetros das curvas de calibração. Estes resultados demonstram que a quantificação de As(III) pode ser realizada por meio do controle do pH no preparo das soluções padrão e, provavelmente também das amostras, utilizando solução tampão citrato/ácido cítrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5, sem que haja interferência da espécie de As(V), pela formação simultânea do hidreto desta espécie.

5.1.4 Otimização do pré redutor para determinação de itAs

Conforme observado na Figura 7, nas condições empregadas para geração química de vapor, a saber, NaBH_4 0,4% m/v e HCl 4 M, há a formação do hidreto de As(V), embora o sinal analítico para esta espécie seja bem menor que aquele para a espécie volátil de As(III), conhecido como arsina (AsH_3). Esse fato ocorre porque as condições de acidez e concentração do redutor requeridas para a formação de espécies voláteis de arsênio, a partir de suas diferentes espécies inorgânicas e orgânicas, são bastante distintas, dificultando dessa maneira a geração de todos os hidretos de forma eficiente e semelhante. A pré-redução como uma das etapas do preparo de amostras objetiva que as diferentes espécies de arsênio inorgânico do xisto retornado atinjam o mesmo estado de oxidação, ou seja, As(III), e que, portanto, seja possível produzir o hidreto analiticamente mais viável, nas mesmas condições previamente otimizadas e com a mesma velocidade, ou seja, o AsH_3 . Deste modo, a determinação do teor total de As inorgânico é alcançado (somatório das espécies de As(III) e de As(V) originalmente presentes na amostra). Este procedimento é recomendado em diversos trabalhos da literatura [85, 86, 87, 88, 89]. Em busca bibliográfica [42, 781, 82, 83, 84], identificou-se que os agentes redutores mais utilizados para a etapa de pré-redução de arsênio (V) a arsênio (III) são KI/ácido ascórbico, L-cisteína e tiouréia. O KI é um agente redutor largamente utilizado na redução de Sb(V), As(V) e MMA, além de evitar a interferência do íon I_3^- . O papel redutor do KI se vê reforçado pela presença do ácido ascórbico, esse é capaz de evitar a oxidação do iodeto e a formação de grandes quantidades de iodo [38, 39].

A eficiência do pré-redutor KI/ácido ascórbico, foi avaliada com soluções padrão de As (III) e de As(V), na concentração de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando NaBH_4 0,4% m/v, 2 mL de pré redutor KI em meio de ácido ascórbico (este a 1,6% m/v) e 2 mL de HCl 6 M, conforme Figura 11. Para que ocorra redução mais rápida e eficiente de As(V) a As(III), é necessário que o pré redutor esteja em meio ácido, por isso a utilização do HCl [38].

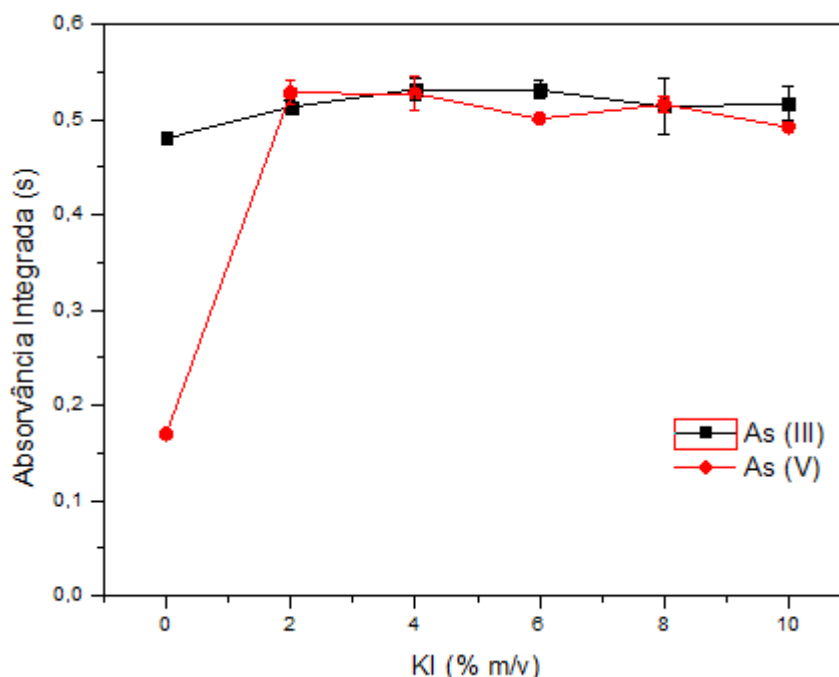


Figura 11 Estudo da concentração do pré-redutor KI/ácido ascórbico na redução de As(V) para As(III) em solução padrão. Condições: HCl 4,0 M e NaBH₄ 0,4% (m/v) como carreadores com vazões de 6,0 mL /min e amostra com vazão de 15 mL /min.

Como pode ser observado no gráfico da Figura 10, a utilização do pré redutor KI/ ácido ascórbico foi eficaz na conversão do As(V) para As(III), uma vez que o sinal analítico para as soluções padrão de ambas as espécies, analisadas independentemente, teve comportamento idêntico para as diferentes concentrações de pré-redutor avaliadas. Além disso, pode-se inferir que a sensibilidade do método não é prejudicada pela presença do redutor, uma vez que não houve queda no sinal da solução padrão de As(III). Desta forma, com o intuito de garantir a redução completa do As(V) para As(III), a concentração de 4,0% m/v de pré-redutor foi adotada para realizar a redução da espécie pentavalente e, assim, garantir a quantificação do teor total de As inorgânico por HG AAS como parte do procedimento de fracionamento do As nas amostras de xisto retortado.

Com o intuito de diminuir os custos de análise e também de verificar se o volume de pré-redutor utilizado no primeiro experimento foi suficiente, um segundo estudo foi realizado com diferentes volumes de KI 4,0% m/v em meio ácido ascórbico 1,6% m/v, para investigar o volume mínimo necessário de pré-

reductor para a conversão da espécie pentavalente à espécie trivalente de As. Para tanto, foram utilizadas soluções padrões de As(III) e de As(V), em concentração de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, como apresentado na Figura 11.

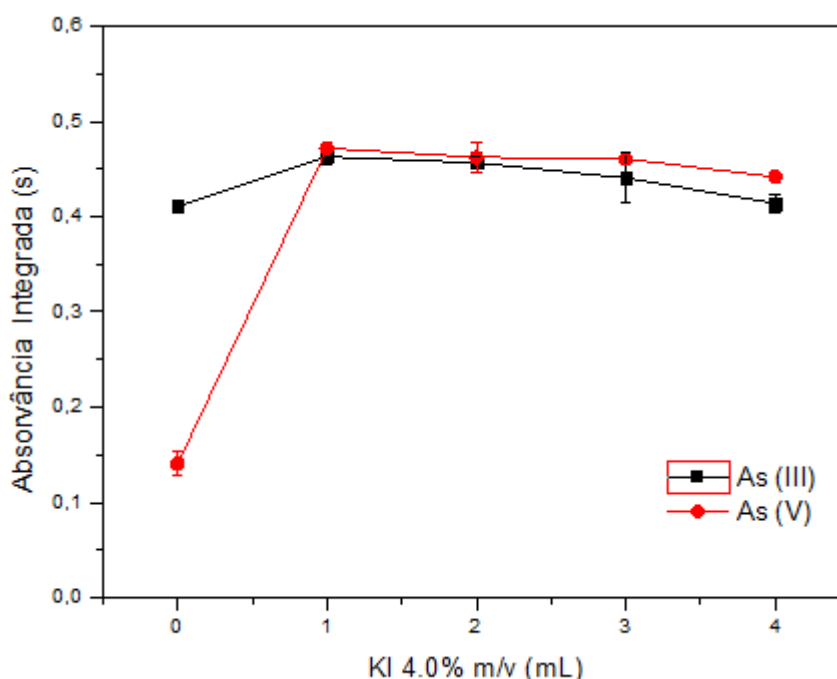


Figura 12 Estudo do volume de KI 4,0% m/v em meio de ácido ascórbico 1,6% m/v para a redução quantitativa de As(V) a As(III), em solução padrão dessas espécies de As, e posterior determinação do teor de As inorgânico total por HG AAS.

De acordo com o gráfico da Figura 12, pode-se observar que a utilização de volumes do pré-redutor KI 4,0% m/v, em meio de ácido ascórbico 1,6% m/v, maiores que 1,0 mL foram eficazes para a conversão de As(V) a As(III), e que 2,0 mL desse pré-redutor implica na completa redução da espécie pentavalente com a máxima sensibilidade para a determinação de itAs por HG AAS. Volumes maiores desse pré-redutor causaram declínio de sinal para ambas as espécies.

Para avaliar a eficiência do pré-redutor com diferentes concentrações de As(V), foi construída uma curva de calibração com soluções padrão desta espécie na faixa de $0,25$ a $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Como condição de referência, foram construídas curvas de calibração com soluções de As(III), a primeira com 2 mL de KI 4,0% m/v em ácido ascórbico 1,6% m/v, e a segunda em meio aquoso.

Para a curva de As(V) utilizou-se também 2,0 mL do pré-redutor KI/ácido ascórbico. O resultado desse estudo pode ser visto na Figura 13.

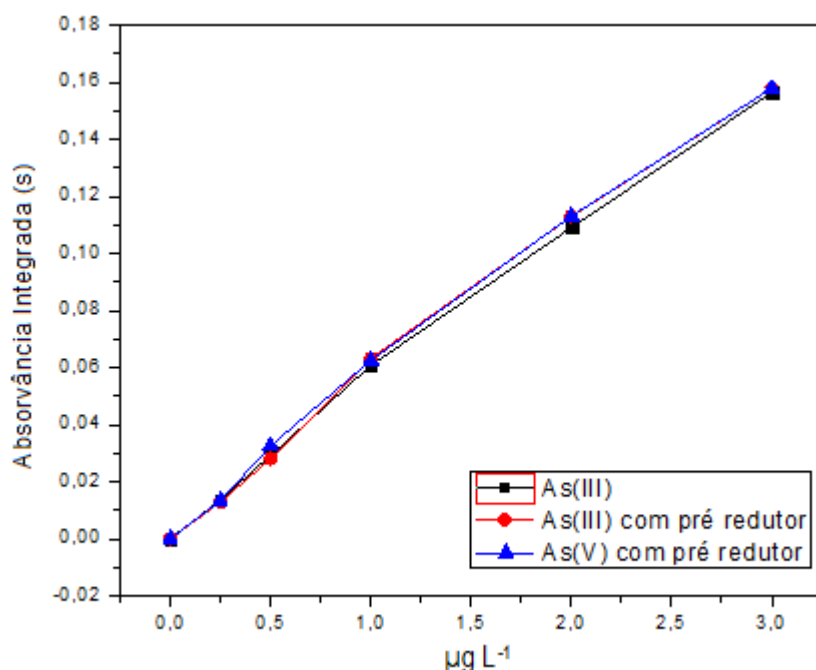


Figura 13 Curvas de calibração com soluções padrão de As(III) e As(V) com o pré-redutor KI/ácido ascórbico, e solução padrão aquosa de As(III) sem pré-redutor.

Como pode ser visto na Figura 13, as três curvas de calibração avaliadas para ambas as espécies de As não apresentaram diferenças significativas entre si, uma vez que seus coeficientes angular apresentam valores muito próximos entre si, com média de, 0,0528 e desvio padrão relativo de 1,72%, assegurando a adequabilidade do pré redutor KI/ácido ascórbico na conversão do As(V) a As(III), o que possibilita a determinação de arsênio inorgânico total (itAs), ou seja, o teor de As(III) original na amostra mais o As(V) reduzido a As(III). Além disso, a equivalência das três curvas de calibração comprovam que a utilização desse pré-redutor não interfere na geração de hidreto da espécie de As(III). A tabela 5 apresenta os parâmetros, a faixa estudada e as condições ideais de cada variável experimental para a determinação das espécies de arsênio.

Tabela 5 Resumo das condições otimizadas para determinação de As(III) e As inorgânico total (itAs) em soluções padrão por HG AAS.

Variável	As(III)	itAs
Meio de preparo da solução padrão	Tampão (3,0 mL) ¹	HCl 6 M (2,0 mL)
Volume final da solução padrão (mL)	30	30
Redutor NaBH ₄ (% m/v) ²	0,4	0,4
Pré-redutor KI (% m/v) ³	N.A.	4,0
Volume de KI 4,0% m/v ³	N.A.	2,0
Reação com pré-redutor (min) ³	N.A.	30
Carreador da amostra ⁴	H ₂ O	HCl 4 M

N.A.: não se aplica; ¹ Tampão de ácido cítrico/citrato de sódio em pH 4,5; ² NaBH₄ em meio de NaOH 0,5% m/v; ³ KI em meio de ácido ascórbico 1,6% m/v; ⁴ Linha do sistema de geração química de vapor.

5.2 Extração de As em xisto retornado

A partir do planejamento fatorial fracionário 2^{6-2} , descrito na seção 4.7, foram obtidos os gráficos normais dos efeitos para determinação de itAs em amostras de XR. O gráfico normal de efeito padronizado é uma alternativa para avaliar os resultados de um planejamento fatorial, completo ou fracionário, a fim de estimar a magnitude e a importância dos fatores experimentais investigados [78]. Nesse tipo de gráfico, um valor de efeito padronizado de um fator avaliado que esteja afastado do zero tanto do eixo x quanto do eixo y, geralmente é estatisticamente significativo, enquanto valores de efeitos padronizados mais próximos dos zeros de cada eixo podem ser considerados não significativos, ou seja, não influenciam na resposta analítica, sendo derivados unicamente de flutuações experimentais (erros aleatórios) [78,82].

No gráfico da figura 14 obtido para o planejamento 2^{6-2} para a extração de arsênio a partir da matriz xisto retornado, pode-se observar que os fatores concentração de HCl redutor e volume de HF foram muito significativos, uma vez que se encontram bem afastados do zero do eixo y (valor normal esperado) e do zero do eixo x (efeito padronizado). Já os efeitos dos fatores

concentração de KI e tempo de reação parecem estar no limiar de significância dos efeitos para os níveis avaliados. Os níveis avaliados para o tempo de sonicação (US) e o HCl extrator aparentemente se devem apenas aos erros sistemáticos. Deste modo, os níveis testados para o HCl extrator e o tempo de sonicação não parecem impactar significativamente a resposta analítica, e podem ser usados de acordo com a conveniência analítica. Ou seja, dentro dos níveis testados, pode-se escolher a menor concentração do ácido e menor tempo de ultrassom, sem nenhum prejuízo para a confiabilidade dos resultados da determinação do teor de As total medido nas amostras de XR.

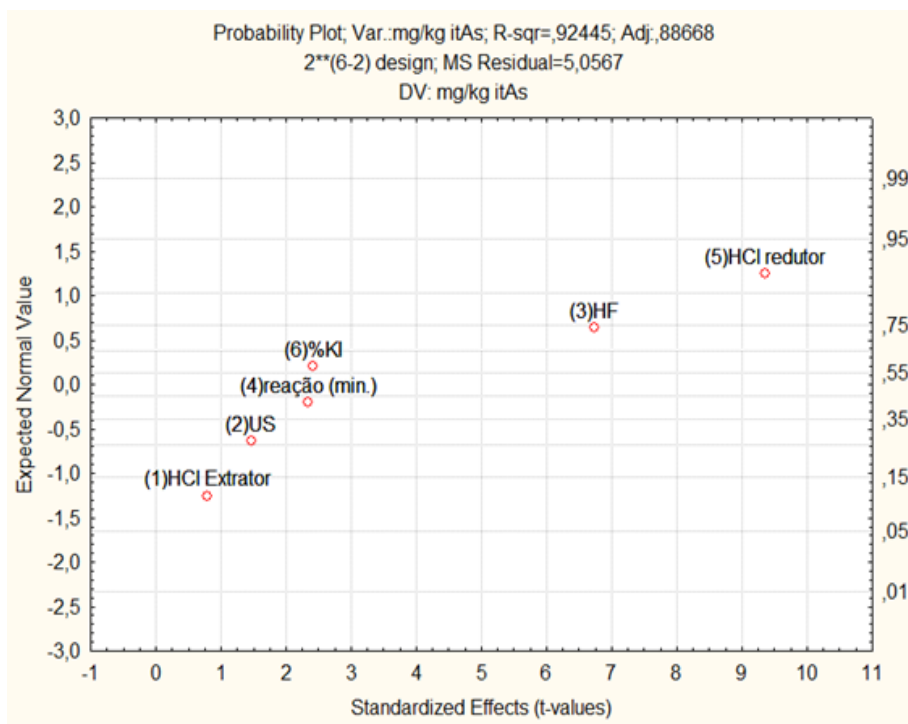


Figura 14 Gráfico de probabilidade para os efeitos padronizados do planejamento fatorial fracionário 2^{6-2} para a extração assistida por ultrassom do XR e determinação de itAs por HG AAS. US – tempo empregado de ultrassom na amostra.

O efeito do fator HCl redutor foi muito marcante e discrepante do comportamento dos outros fatores avaliados, não podendo ser considerado apenas um erro aleatório. Ao aumentar a concentração do HCl redutor de 3 M para 6 M, houve um efeito significativo e positivo na resposta analítica, indicando que uma maior concentração de HCl redutor maximiza a conversão

do As(V) a As(III) no XR. Isso está relacionado ao fato que o XR apresenta uma alta concentração de arsênio, necessitando assim que o meio no qual o As(V) será reduzido a As(III) esteja fortemente ácido.

O uso de HF na extração de As a partir do XR também influenciou de maneira significativa e positiva a resposta analítica, o que seria esperado, já que essa matriz possui em sua composição mais de 40% de SiO₂, [6] o que dificulta o processo de extração e a liberação do analito a partir da matriz. Assim, avaliando o resultado desse planejamento, o nível ótimo de HCl usado no preparo de amostra no US foi considerado como a menor concentração avaliada, já que a mesma não prejudicou a recuperação do analito, e uma concentração mais elevada de HCl poderia provocar a interconversão das espécies de As(III) e As(V). O HCl redutor foi fixado na maior concentração, devido ao seu efeito significativo positivo, garantindo assim o meio fortemente ácido para redução da espécie pentavalente e alta sensibilidade da análise.

Considerando a significância de vários dos fatores avaliados na extração de As a partir do XR no planejamento fatorial fracionário 2⁶⁻², um novo planejamento foi proposto, 2⁴⁻¹, visando o alcance dos níveis ótimos dos fatores envolvidos na referida extração de As e análise por HG AAS, no qual foram avaliados os fatores: HF (0,5 e 0,75 mL), KI (3,0 e 4,0% m/v), tempo de reação com o pré-redutor KI/ácido ascórbico (10 e 25 min) e tempo de extração no US (0 e 30 min). A redução do tempo de ultrassom (variável que no planejamento 2⁶⁻² não teve efeito significativo), implica em um procedimento mais rápido para a etapa de preparo de amostra, bem como na diminuição do risco de interconversão das espécies de arsênio na amostra. A Figura 15 apresenta o gráfico dos efeitos padronizados para o novo planejamento.

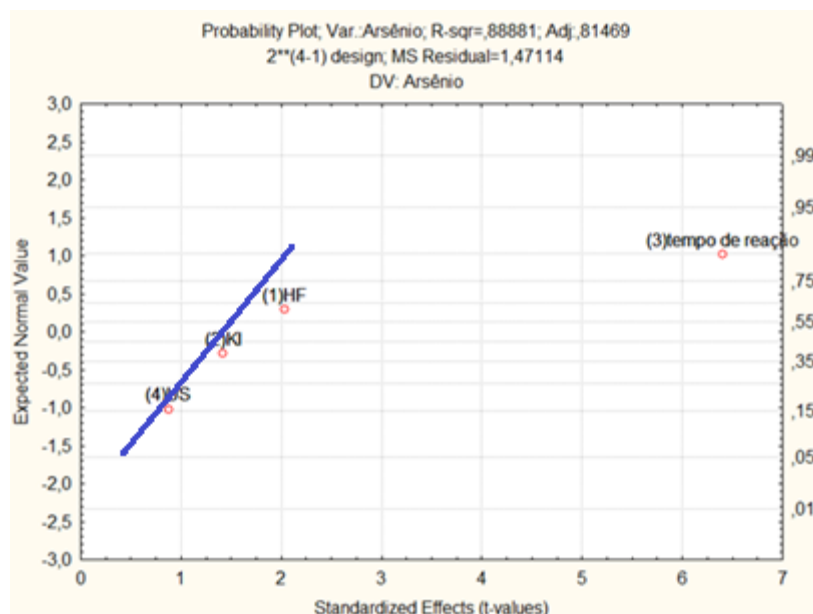


Figura 15 Gráfico dos valores dos efeitos padronizados para o planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} para a extração assistida por ultrassom do XR e determinação de itAs por HG AAS.

Conforme pode ser observado no gráfico da figura 15, o fator tempo de reação foi divergente dos demais, influenciando positivamente a resposta analítica. O efeito padronizado dos fatores tempo de sonicação (US), concentração do KI e de HF estão bem próximos dos pontos zero dos eixos x e y, e provavelmente suas variações não foram significativas e se devem apenas a erros aleatórios. Segundo Torres e colaboradores [82], na situação em que os efeitos dos fatores avaliados se ajustam bem à uma linha reta que cruza o valor normal igual a zero (ou probabilidade acumulada de 50%) sobre o ponto zero do eixo horizontal, faz sentido considerar que esses pontos sejam provenientes de uma população normal de média zero. Nesta situação, pode-se escolher os níveis que melhor se enquadram na adequação analítica.

Analisando os resultados do planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} e buscando a extração quantitativa de arsênio a partir do XR, sem riscos de interconversão ou volatilização das espécies do analito, foram escolhidos os seguintes níveis dos fatores avaliados. 1) 30 minutos no banho ultrassônico em temperatura ambiente para a obtenção do extrato do XR. O uso do US garante uma melhor extração do As uma vez que a amostra é submetida ao processo de cavitação; 2) 4,0% m/v para a concentração do pré-redutor KI, em meio de

ácido ascórbico 1,6% m/v. O KI em meio fortemente ácido é responsável pela redução do As(V) a As(III), e a concentração de 4,0% m/v implicou na redução mais eficiente do As(V). O menor volume de HF foi escolhido com o intuito de preservar as espécies, visto que um meio fortemente ácido pode influenciar a interconversão ou volatilização das espécies. Além disso, o branco analítico preparado com 0,75 mL de HF apresentou sinal muito elevado, o que depreciaria assim os LD e LQ do método.

Na Tabela 7 estão descritas as condições consideradas ideais para a extração ácida de As em xisto retornado assistido por ultrassom e determinado por HG AAS.

Tabela 6 Condições ideais para extração das espécies de As a partir do XR, obtidas a partir do planejamento 2⁴⁻¹.

Fator	Condição ideal
Ultrassom (min)	30'
HF (mL)	0,5
Tempo de reação (min) ¹	25
KI (% m/v)	4,0

¹ Tempo de reação com o pré-redutor KI em meio de ácido ascórbico 1,6% m/v. Condições: HCl extrator 5,0 M; HCl redutor 6,0 M; NaBH₄ 0,4% m/v em meio de NaOH 0,5% m/v.

5.3 Avaliação da seletividade do método nas condições otimizadas

Para avaliar se as condições consideradas ideais para a extração das espécies de As a partir da matriz XR mantem a integridade das mesmas, um estudo foi realizado com o uso de soluções padrão de As(III) e de As(V). Além das soluções padrão dessas espécies isoladas, também se avaliou uma série de combinação de diferentes concentrações de cada espécie, com o objetivo de se ter, em todas as avaliações, a concentração final de 2,5 µg L⁻¹. A Tabela 8 apresenta os resultados desse estudo.

Tabela 87 Resultado de recuperação para o teste das soluções padrão nas condições otimizadas pelo método.

Solução padrão ($\mu\text{g L}^{-1}$) ¹		As(III) $\mu\text{g L}^{-1}$ - %Rec.	As(V) $\mu\text{g L}^{-1}$ - % Rec.	itAs ² $\mu\text{g L}^{-1}$ - %Rec.
As(III)	As(V)			
2,5	0	2,66 – 106%	N.A	2,51 – 100%
2,0	0,5	2,04 – 102%	0,58 – 116%	2,62 – 105%
1,25	1,25	1,31 – 105%	1,34 – 107%	2,65 – 106%
0,5	2,0	0,5 – 100%	1,94 – 97%	2,44 – 98%
0	2,5	< LOQ	2,45 - 98%	2,45 - 98%

¹ Solução padrão preparada com a adição das duas espécies de As, nas concentrações informadas na tabela. ² Somatório das espécies As(III) e As(V).
*refere-se à inibição do As(V) no método que utiliza o tampão.

De acordo com a Tabela 8, é possível verificar que as condições consideradas ótimas para o preparo do extrato de xisto retornado com os ácidos clorídrico e fluorídrico no ultrassom não provocaram interconversão das espécies de As avaliadas ou perdas dos analitos por volatilização, uma vez que a recuperação do As(III) ou do itAs (soma de As(III) e de As(V)) a partir das soluções padrão avaliadas ficou na faixa de 98 a 106 %.

5.4 Parâmetros de Mérito

Após a otimização dos parâmetros experimentais para o método proposto, os parâmetros de mérito para a determinação do As inorgânico total e também do As(III) foram avaliados. Foram estudados alguns parâmetros, tais como faixa linear, coeficiente de determinação e limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do método, os quais são apresentados na Tabela 10.

Tabela 8 Parâmetros de mérito do método otimizado para determinação das frações de arsênio inorgânico em xisto retornado por HG AAS após extração ácida assistida por ultrassom.

Parâmetro	As(III)	itAs ¹
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,25 – 3,0	0,25 – 3,0
Coeficiente angular da curva (($\mu\text{g L}^{-1}$)s)	0,0347	0,0567
Coeficiente linear da curva	0,001	0,0022
Coeficiente de determinação	0,9982	0,9986
Limite de detecção (mg kg^{-1})	1,2	0,4
Limite de quantificação (mg kg^{-1})	3,7	1,3

¹ Somatório das espécies As(III) e As(V).

A metodologia desenvolvida apresentou adequada linearidade na faixa linear estudada, com valores de coeficientes de determinação maiores que 0,998 em ambas as condições de medida. Os limites de detecção e de quantificação foram calculados de acordo com recomendação da IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), utilizando as Equações 8 e 9:

$$\text{LD} = (3,3 \times \text{SD}_{\text{branco}})/m \quad \text{Equação 7}$$

$$\text{LQ} = (10 \times \text{SD}_{\text{branco}})/m \quad \text{Equação 8}$$

Onde: $\text{SD}_{\text{branco}}$ é o desvio padrão de dez medidas sequenciais do branco analítico e m é o coeficiente angular da curva de calibração.

Os limites de detecção e quantificação foram satisfatórios para determinação de As(III) e se itAs em amostras de xisto retornado e a metodologia mostrou-se reprodutiva, com valores de RSD menores que 5% em todas as amostras analisadas.

5.5 Avaliação da exatidão do método analítico desenvolvido

5.5.1 Teste de adição e recuperação

A exatidão de um método analítico é o grau de concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito, e se desdobra em dois componentes: veracidade e precisão. A veracidade é geralmente expressa como o desvio sistemático, enviesamento ou recuperação do analito. Já o valor da precisão é geralmente expresso em termos de imprecisão e normalmente calcula-se sob a forma de um desvio padrão do resultado do ensaio [90]. Para avaliar a exatidão do método para a determinação de arsênio trivalente e arsênio inorgânico total, devido a falta de material de referência certificado, foram realizados testes de adição e recuperação, em três níveis de concentração de arsênio trivalente, e em triplicata, sendo as diluições das amostras feitas no modo massa/massa, e não volume/volume. As concentrações adicionadas de As foram escolhidas a partir da concentração de itAs nas amostras de XR. Foram estabelecidos os níveis de adição em termos percentuais de itAs naturalmente presente em XR, sendo o nível 1 de 20%, 2 de 50% e 3 de 100% de 29,9 mg kg⁻¹ de itAs do XR medido previamente, visando assim avaliar ambas a veracidade (via % de recuperação do analito) e a precisão (via RSD) dos métodos desenvolvidos, ou seja, a exatidão dos mesmos, bem como os possíveis efeitos de matriz. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 11.

Tabela 9 Teste de adição e recuperação para As(III) e itAs nas amostras de xisto retornado por HG AAS, após extração ácida assistida por ultrassom (n=3).

Nível ¹	Adicionado ² ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g kg}^{-1} \pm \text{SD}$)	Rec. (%)	Encontrado ($\mu\text{g kg}^{-1} \pm \text{SD}$)	Rec. (%)	Encontrado ($\mu\text{g kg}^{-1} \pm \text{SD}$)	Rec. (%)
As(III)				As(V)		itAs	
0	0	$0,34 \pm 0,02$	n.a	$1,43 \pm 0,02$	n.a	$1,32 \pm 0,03$	n.a
1	0,259	$0,65 \pm 0,02$	116	$1,63 \pm 0,01$	110	$1,57 \pm 0,01$	114
2	0,647	$0,99 \pm 0,04$	101	$2,12 \pm 0,01$	109	$2,03 \pm 0,02$	112
3	1,29	$1,89 \pm 0,05$	118	$2,95 \pm 0,03$	111	$2,85 \pm 0,14$	116

¹ Nível de adição em relação ao teor de As total natural de XR: 1 – 20%; 2 – 50% e 3 – 100%. ² Adição de As(III). Rec. – Recuperação.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 11, pode-se verificar uma faixa de recuperação satisfatória para os níveis de adição avaliados, variando entre 101 e 118%. Constatou-se assim que o método proposto apresenta exatidão adequada para análise proposta. Além disso, foram encontrados baixos valores de desvio padrão, o que evidencia uma alta precisão dos métodos desenvolvidos. Os valores de RSD ficaram abaixo de 5%, confirmando ainda mais a alta precisão do método.

5.5.2 Determinação de As(III) e itAs nas amostras de XR

Os teores de arsênio obtidos nas amostras reais investigadas, utilizando extração ácida assistida por ultrassom, estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 10 Teores de As(III) e itAs obtidos na amostra de XR por HG AAS, após extração ácida assistida por ultrassom (n=3).

As(III) (mg kg ⁻¹)			As(V)* (mg kg ⁻¹)			itAs** (mg kg ⁻¹)		
Média	SD	RSD (%)	Média	SD	RSD (%)	Média	SD	RSD (%)
7,67	0,17	2,26	21,62	0,28	1,32	29,29	0,23	0,77

*A concentração de As(V) foi estimada pela diferença do teor total de As inorgânico menos o teor de As(III). **itAs= As(III) + As(V).

Comparando os teores de itAs obtidos no presente trabalho com os gerados pela ACME Analytical Laboratories (Anexo I), é possível inferir a exatidão do método desenvolvido, pois de acordo com os resultados a recuperação do analito no método foi de 92% em relação ao da ACME. Os limites de detecção e de quantificação para a determinação de As(III) e itAs na amostra de XR foram considerados satisfatórios para a finalidade pretendida, assim como os parâmetros de méritos e, por fim, constatado por meio das faixas de recuperação.

O arsênio trivalente (arsenito) é 60 vezes mais tóxico do que a forma oxidada pentavalente e como pode ser observado na tabela, o teor de As(III) é aproximadamente 26% em relação ao teor total de arsênio na amostra de XR, comprovando que o teor total de um elemento não estabelece o grau de toxicidade que ele apresenta em uma dada amostra.

6. CONCLUSÕES

O método de extração ácida assistida por ultrassom é uma alternativa simples e rápida para o preparo de amostras de xisto retornado e, possivelmente de outros coprodutos da mineração, permitindo a extração de espécies inorgânicas de arsênio à temperatura ambiente, sem interconversão das espécies de arsênio ou perdas por volatilização. Os parâmetros de mérito obtidos comprovaram a viabilidade do método. Os estudos de exatidão efetuados mostraram resultados confiáveis, com valores de recuperação dos analitos próximos a 100%, garantindo alta veracidade e baixos desvios padrões relativos, comprovando a alta precisão, os quais foram compatíveis com a técnica de HG AAS.

A utilização de ácido clorídrico diluído e de ácido fluorídrico, juntamente com a energia ultrassônica foi essencial para a extração quantitativa das espécies de arsênio a partir da matriz xisto retornado. O emprego de planejamento fatorial fracionário e dos gráficos de efeito padronizados mostraram-se ferramentas simples e eficientes para otimização do procedimento de extração dos analitos a partir da matriz xisto retornado, bem como das condições de análise por HG AAS, com reduzido número de experimentos, tempo, custo e geração de resíduos do processo analítico.

A determinação do As(III) foi realizada em meio tamponado com ácido cítrico e citrato de sódio, em pH 4,5, possibilitando a geração seletiva do hidreto da espécie de As (III) para determinação por HG AAS, mesmo na presença da espécie de As(V), sendo esta uma forma simples, rápida e confiável de fracionamento de As inorgânico, uma vez que nessas condições, a espécie de As(V) não apresenta reatividade com o redutor tetrahidroborato de sódio. A determinação de itAs foi dada pela redução da espécie pentavalente de arsênio a As(III) através de uso de um pré redutor KI 4,0% m/v em ácido ascórbico 1,6% (m/v) em meio fortemente ácido, garantindo a redução e eficiência do método, comprovado pela técnica de adição e recuperação e teste de seletividade.

A respeito da amostra analisada não há conhecimento na literatura sobre as concentrações das frações de arsênio no XR, porém pode-se inferir

que o teor total de arsênio encontrado na rocha não dá ideia da toxicidade desse coproduto.

8. BIBLIOGRAFIA

- [1] MARTINAZZO, R.; SILVEIRA, C. A. P.; BAMBERG, A. ; PILLON, C. N. ; VALGAS, R. A. . **Estimativa da geração de coprodutos de processos agroindustriais e da mineração e do potencial de fornecimento de nutrientes para a agricultura.** Documentos (Embrapa Clima Temperado. Impresso), v. 385, p. 1-48, 2015.
- [2] BAMBERG, A. L.; SILVEIRA, C. A. P.; MARTINAZZO, R.; BERGMANN, M.; GRECCO, M. F.; POTES, M. L. **Desempenho agrônômico de fontes minerais e orgânicas de nutrientes para as culturas de milho e trigo.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ROCHAGEM, 2., 2013, Poços de Caldas. Anais... Visconde do Rio Branco: Suprema, 2013.
- [3] ARCELORMITTAL BRASIL. **O que é coproduto?** Disponível em: <http://www.cst.com.br/produtos/co_produtos/faq/faq.asp>. Acesso em: 13 jan. 2014.
- [4] MACHADO, Roberta. **Apesar de ser potência no agronegócio, Brasil importa 75% dos fertilizantes que usa.** Disponível em <https://www.em.com.br/app/noticia/agropecuario/2016/02/22/interna_agropecuario,736370/apesar-de-forte-no-agronegocio-brasil-importa-75-dos-fertilizantes.shtml> Acesso em 20 de julho de 2018.
- [5] GIACOMINI, Diego Antônio. **Estratégias para mitigar as emissões de NH₃, N₂O e CH₄ em compostagem automatizada de dejetos líquidos suínos.** Tese (Doutorado). Programa de Pós Graduação em Ciências do Solo Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria – RS.
- [6] DOUMER, Marta Eliane. **Impacto de subprodutos sólidos da industrialização do xisto sobre atributos biológicos do solo.** Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Santa Maria – RS. 2011.
- [7] PIMENTEL, P. M.; SILVA, C. N.; MELO, D. M. A.; MELO, M. A. F.; MALDONADO, G.; HENRIQUE, D. M. **Caracterização e uso de xisto para adsorção de chumbo (II) em solução.** Cerâmica 2006, 52, 194.
- [8] ANJOS, ANA ROSA MARTINS DOS. **Influencia dos resíduos da mineração do xisto no crescimento e na composição química da aveia**

preta (*Avena strigosa* shreber, var. flãa nova) cultivada em vaso, com ênfase em metais pesados. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo). Curso de Pós Graduação em Agronomia Universidade Federal do Paraná-

[9] Jeniffer V. dos Santosa, Rafael J. B. De Presbiterisa, Vanessa C. G. dos Santosa, Marco T. Grassia, Iara Messerschmidta, Betânia F. Pereiraa, Rosane Martinazzob e Gilberto Abatea **Avaliação da liberação de elementos traço em solo tratados com xisto retornado.** *Quim. Nova*, Vol. 40, No. 5, 496-505, 2017

[10] LOBINSKI, R. **Speciation - targets, analytical solutions and markets,** *Spectrochim. Acta Part B*, 53 (1998) 177-185.

[11] BARRA, C. M.; SANTELLI, R. E.; ABRÃO, J. J.; DE LA GUARDIA, M. **Especiação de arsênio – uma revisão,** *Quím. Nova*, 23 (2000) 58-70.[12] Cai, Y.**Speciation and analysis of mercury, arsenic, and selenium by atomic fluorescence spectrometry.** *Trends Anal Chem*, 2000 19:62-66.

[13] OLIVEIRA, E.; J. BRAZ. **Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2003,14,174.

[14] VALCÁRCEL, M.; **Principios de Química Analítica,** Springer-Iberica: Barcelona, 1999

[15] KRUG, F. J.; ***Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre métodos de preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar.*** 1ª ed., Edição do autor: Piracicaba, 2008

[16] HOENIG, M.; DE KERSABIEC, A. M. **Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present status.** *Spectrochimica Acta, Part B* 1996,51,1297.

[17] BORTOLUZZI, E. C.; POLETO, C.; BAGINSKI, A. J.; SILVA, V. R. **Agregação de um solo subtropical sob calagem: um estudo usando difração laser.** *Revista Brasileira de Ciência.do Solo* 2010, 34, 725.

- [18] LIMA, A. F.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A. A.; J. BRAZ. **Alternative analytical method for metal determination in inorganic fertilizers based on ultrasound-assisted extraction.** Journal of the Brazilian Chemical Society 2011, 22, 1519
- [19] MORAES, P. M.; LOUREIRO, V. R.; PADILHA, P. M.; NEVES, R. C. F.; SALEH, M. A. D.; SANTOS, F. A.; SILVA, F. A. **Immobilization of the enzymes on chromatographic supports: a tool to research of inhibitor compounds.** *Quimica Nova* 2009, 32, 923.
- [20] YEN, T. F., CHILINGARIAN, G. V. **Introduction to oil shales.** Oil shale. Amsterdam: Elsevier, 1976.
- [21] SNAPE, C. **Composition, Geochemistry and Conversion of Oil Shales.** UK: Springer, 1993.
- [22] SÉIGHT, J. G. **Shale oil production processes.** USA: Elsevier, 2012.
- [23] ADAMSON, J., IRHA, N., ADAMSON, K., STEINESS, E., KIRSO. U. **Effect of oil shale ash application on leaching behavior of arable soils: an experimental study.** *Oil Shale*, 27 (3), 250-257, 2010.
- [25] ALTUN, N. E.; HIÇYLMAZ, C.; HWANG, J. Y.; SUAT BAGCI, A.; KÖK, M. V. **Oil Shales in the world and turkey; reserves, current situation and future prospects: a review.** *Oil Shale* 2006, 23, 211.
- [26] RIBAS, Laís. **Influência do processo de pirólise sobre as camadas de folhelho pirobetuminoso de São Mateus do Sul- PR.** Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Geologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.
- [27] PEREIRA, H. S., VITTI, G. C. **Ação do xisto em atributos químicos do solo e na nutrição do tomateiro.** *Hortic. Bras.* 2004, 2, 317.
- [28] CHAVES, L. H. G., VASCONCELOS, A. C. F. **Alterações de atributos químicos do solo e do crescimento de plantas de milho pela aplicação de xisto.** *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 10 (1), 84-88, 2006.

- [29] SILVEIRA, C. A. P., FERREIRA, L. H. G., MATTOS, R. **Variações do pH em água e na condutividade do extrato de saturação de solo decorrentes da aplicação de calcário de xisto, finos de xisto e xisto retortado.** Projeto Xisto Agrícola – Relatório Interno. 2009a.
- [30] LEÃO, R. E.; GIACOMINI, S. J.; REDIN, M.; SOUZA, E. L.; SILVEIRA, C. A. P. **A adição de xisto retortado aumenta a retenção do carbono de resíduos vegetais no solo.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, 49 (10), 818-822. 2014.
- [31] ANJOS, ANA ROSA MARTINS DOS. **Influencia dos resíduos da mineração do xisto no crescimento e na composição química da aveia preta (*Avena strigosa* shreber, var. flãa nova) cultivada em vaso, com ênfase em metais pesados.** Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo). Curso de Pós Graduação em Agronomia Universidade Federal do Paraná- Curitiba, 1993.
- [32] HENDEN, E.; İŞLEK, Y.; KAVAS, M.; AKSUNER, N.; YAYAYÜRÜK, O.; ÇİFTÇİ, T. D.; İLKTAÇ, R. **A study of mechanism of nickel interferences in hydride generation atomic absorption spectrometric determination of arsenic and antimony.** Spectrochimica Acta Part B, 66, 793–798, 2011.
- [33] HOLAK, W. **Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic spectrophotometry.** *Analytical Chemistry*, 41, 1712 - 1713, 1969.
- [34] CHU, R. C.; BARRON, G. P.; BAUMGARNER, P. A. **Arsenic determination at submicrogram levels by arsine evolution and flameless atomic absorption spectrophotometric technique.** *Anal. Chem.* 1972, 44, 1476.
- [35] DEDINA, J. & TSALEV, D. L. **Hidride Generation Atomic Absorption Spectrometry.** Nova York, John Wiley & Sons, 1995. p.18-117.
- [36] ZHANG, N.; FU, N.; FANG, Z.; FENG, Y. & KE, L. **Simultaneous multi-channel hydride generation atomic fluorescence spectrometry determination of arsenic, bismuth, tellurium and selenium in tea leaves.** *Food Chemistry*, 124: 1185, 2011.

- [37] DENG F.; DONG, R.; YU, C.; LUO, X.; TU, X.; LUO, S. & YANG, L. **Determination of trace total inorganic arsenic by hydride generation atomic fluorescence spectrometry after solid phase extraction-preconcentration on aluminium hydroxide gel.** *Microchimica Acta*, 180: 509, 2013.
- [38] DENG, B.; QIN, X.; XIAO, Y.; WANG, Y.; YIN, H.; XU, X. & SHEN, C. **Interface of online coupling capillary electrophoresis with hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry and its application to arsenic speciation in sediment.** *Talanta*, 109: 128, 2013.
- [39] PASIAS, I. N.; THOMAIDIS, N. S. & PIPERAKI, E. A. **Determination of total arsenic, total inorganic arsenic and inorganic arsenic species in rice and rice flour by electrothermal atomic absorption spectrometry.** *Microchemical Journal*, 108: 1, 2013.
- [40] BOUTAKHRIT, K.; BOLLE, F. & GOEYNS, L. **Determination of inorganic arsenic in seafood by HG-ICP-OES after conventional wet digestion.** In: AMSEL, L. HIRSCH, L. (Ed.). *Food Science and Security*. Nova York: Nova Science Publishers, 2009. p. 295-305.
- [41] ILANDER, A. & VAISANEN, A. **The determination of antimony and arsenic concentrations in fly ash by hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry.** *Analytica Chimica Acta*, 689: 178, 2011.
- [42] PÉTURSDÓTTIR, A. H.; GUNNLAUGSDÓTTIR, H.; JÖRUNDSÓTTIR, H.; MESTROT, A.; KRUPP, E. M. & FELDMANN, J. **HPLC-HG-ICP-MS: a sensitive and selective method for inorganic arsenic in seafood.** *Analitical and Bioanalytical Chemistry*, 404: 2185, 2012.
- [43] MATOUSEK, T.; CURRIER, J. M.; TROJÁNKOVÁ, N.; SAUDERS, R. J.; ISHIDA, M.C.; GOSZÁLEZ-HORTA, C.; MUSIL, S.; MESTER, Z.; STÝBLO, M. & DEDINA, J. **Selective hydride generation-cryotrapping – ICP-MS for arsenic speciation analysis at picogram levels: analysis of river and sea water reference materials and human bladder epithelial cells.** *Journal of analytical atomic spectrometry*, 28 (9): 1456, 2013.

- [44] TAKASE, I.; PEREIRA, H. B.; LUNA, A. S.; GRINBERG, P.; CAMPOS, R. C. **Ageração química de vapor em espectrometria atômica.** Química Nova, 25, 1132-1144, 2002.
- [45] ANAWAR, H. M. **Arsenic speciation in environmental samples by hydride generation and electrothermal atomic absorption spectrometry.** Talanta, 88, 30–42, 2012.
- [46] ROBBINS, W. B.; CARUSO, J. A. **Development of hydride generation methods for atomic spectroscopic analysis.** Analytical Chemistry 51 (1979) 889-899.
- [47] D'ULIVO, A. **Chemical vapor generation by tetrahydroborate(III) and other borane complexes in aqueous media - A critical discussion of fundamental processes and mechanisms involved in reagent decomposition and hydride formation.** Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy 59 (2004) 793-825.
- [48] D'ULIVO, A.; MASTER, Z.; STURGEON, R. F. **The mechanism of formation of volatile hydrides by tetrahydroborate(III) derivatization: A mass spectrometric study performed with deuterium labeled reagents.** Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy 60 (2005) 423-438.
- [49] D'ULIVO, A.; MASTER, Z.; MEIJA, J.; STURGEON R. E. **Mechanism of generation of volatile hydrides of trace elements by aqueous tetrahydroborate(III).** Mass spectrometric studies on reaction products and intermediates, Analytical Chemistry 79 (2007) 3008-3015.
- [50] PERGANTIS, S. A.; WINNIK, W.; HEITHMAR E. M.; CULLEN W. R. **Investigation of arsine-generating reactions using deuterium-labeled reagents and mass spectrometry.** Talanta 44 (1997) 1941-1947.
- [51] VANDECASTEELE, C. & BLOCK, C. B. **Modern methods for trace element determination.** Chichester, John Wiley, 1997. p. 330.
- [52] GRINBERG, P.; TAKASE, I. & CAMPOS, R. C. **Characterization and vapour phase interference studies of a flame heated holed quartz T-tube as atomization cell hydride generation atomic absorption spectrometry.** Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 14: 827, 1999.

- [53] KUMAR, A. R. & RIYAZUDDIN, P. **Chemical interference in hydride-generation atomic atomic spectrometry**. Trends in Analytical Chemistry, 29 (2): 166, 2010.
- [54] EPA. Method 7061-A. **Arsenic (Atomic Absorption, Gaseous Hidride).**1992. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/7061a.pdf>> Acesso em: 16 de Julho de 2018.
- [55] EPA. Method 3050B. **Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils**. 1996. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/epa-3050b.pdf>> Acesso em: 16 de Julho de 2018.
- [56] EPA. Method 3051. **Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils**. 1994. Disponível em:< <http://www.caslab.com/EPA-Methods/PDF/EPA-Method-3051.pdf> > Acesso em: 16 de Julho de 2018.
- [57] BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa SDA Nº 24, de 20 de junho de 2007**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 21 de junho de 2007. Seção 1.
- [58] GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z. & NAMIESNIK, J. **The 12 principles of green analytical chemistry and the significance mnemonic of green analytical practices**. Trends in Analytical Chemistry, 50: 78, 2013.
- [59] ROCHA, D. L.; BATISTA, A. D.; ROCHA, F. R. P.; DONATI, G. L. & NÓBREGA, J. A. **Greening sample preparation in inorganic analysis**. Trends in Analytical Chemistry, 45: 79, 2013.
- [60] KIRBY J., MAHER W. **Measurement of water-soluble arsenic species in freeze-dried marine animal tissues by microwave-assisted extraction and HPLC-ICP-MS**. *J. Anal. At. Spectrom.* 17 (2002) 838-843.
- [61] WROBEL K, KANNAMKUMARATH S. S., CARUSO J. A. **Identification of selenium species in urine by ion-pairing HPLC-ICP-MS using laboratory-synthesized standards**. *Anal. Bioanal. Chem.* 377 (2003) 670-674.
- [62] GOMEZ-ARIZA J. L., SANCHEZ-RODAS D., GIRALDEZ I., MORALES E. **Comparison of biota sample pretreatments for arsenic speciation with coupled HPLC-HG-ICP-MS**. *Analyst* 125 (2000) 401-407.

- [63] FOSTER S., MAHER W., KRIKOWA F., APTE S. **A microwave-assisted sequential extraction of water and dilute acid soluble arsenic species from marine plant and animal tissues.** *Talanta* 71 (2007) 537-549.
- [64] KIRBY J., MAHER W., ELLWOOD M., KRIKOWA F. **Arsenic species determination in biological tissues by HPLC-ICP-MS and HPLC-HGICP-MS.** *Aust. J. Chem.* 57 (2004) 957-966.
- [65] CAO X., HAO C., WANG G., YANG H., CHEN D., WANG X. **Sequential extraction combined with HPLC-ICP-MS for As speciation in dry seafood products.** *Food Chemistry* 113 (2009) 720–726.
- [66] LEUFROY A., NOEL L., DUFAILY V., BEAUCHEMIN D., GUERIN T. **Determination of seven arsenic species in seafood by ion exchange chromatography coupled to inductively coupled plasma-mass spectrometry following microwave assisted extraction: Method validation and occurrence data.** *Talanta* 83 (2011) 770-779.
- [67] B'HYMER, C., CARUSO, J. A. **Arsenic and its speciation analysis using high-performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass-spectrometry;** *J. Chromatogr. A* 1045 (2004) 1-13.
- [68] GOESSLER, W., KUEHNELT, D. **Sample preparation for arsenic speciation, in: Sample preparation for trace element analysis.** (Mester, Z., Sturgeon, R., Ed.), *Comprehensive Analytical Chemistry, Volume XLI*, Elsevier, Amsterdam, 2003, p. 1027-1044.
- [69] WIETESKA, E.; ZIÓEK, A.; DRZEWINSKA, A. **Extraction as a method for preparation of vegetable samples for the determination of trace metals by atomic absorption spectrometry.** *Analytica Chimica Acta*, 330, 251-257, 1996.
- [70] PRIEGO-CAPOTE, F. & CASTRO M. **Ultrasound-assisted digestion: A useful alternative in sample preparation.** *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70, 299–310, 2007.
- [71] CALLE, I.; CABALEIRO, N.; COSTAS, M.; PENA, F.; GIL, S.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. **Ultrasound-assisted extraction of gold and silver from environmental samples using different extractants followed by**

electrothermal-atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 97, 93–100, 2011.

[72] GÜNGÖR, H. & ELIK, A. **Comparison of ultrasound-assisted leaching with conventional and acid bomb digestion for determination of metals in sediment samples.** *Microchemical Journal*, 86, 65–70, 2007.

[73] CALLE, I.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. **Analytical evaluation of a cup-horn sonoreactor used for ultrasound-assisted extraction of trace metals from troublesome matrices.** *Spectrochimica Acta Part B*, 64, 874–883, 2009.

[74] PERIN, Ellen Cristina et al. **Planejamento fatorial Fracionário para desenvolvimento de Método Analítico para posterior determinação de Arsênio por GF AAS em Solos Submetidos a Remineralizadores de solo.** In: III Congresso Brasileiro de Rochagem; 2017, Pelotas: Embrapa Clima Temperado. Anais... Assis: Triunfal Gráfica e Editora, p. 45, 2017.

[75] CAVALCANTI, Dannuza, Dias. **Estratégias analíticas para determinação de arsênio e selênio em amostras de alimentos utilizando a espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos – HG AFS.** (Tese de Doutorado) – curso de Pós Graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, 2014.

[76] LEITE, Diego Pereira. **Estudo de métodos para a determinação de As, Cd, Pb, Cr e Se em fertilizantes base orgânica por AAS e ICP OES.** Tese de Doutorado - Curso de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de São Paulo, Pelotas, 2015.

[77] REZENDE, Hélen Cristine Rezende. **Desenvolvimento de métodos analíticos para especiação de As(III) e As total e determinação de Cd, Cr e Pb em fertilizantes fosfatados utilizando espectrometria de absorção atômica e extração assistida por ultrassom.** (Tese de Doutorado) Curso de Pós Graduação em Química. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

[78] BARROS NETO, B., SCARMINIO, I. S., & BRUNS, R. E. (2007). **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria** (3ª edição ed.). Campinas, SP, Brasil: Editora da UNICAMP.

- [79] WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 1999.
- [80] Howard, A. G. **(Boro)Hydride Techniques in Trace Element Speciation**. J. Anal. At.Spectrom., 1997, 12, 267 - 272
- [81] LEHMANN, E. L.; FOSTIER, A. H.; ARRUDA, M. A. Z. **Hydride generation using a metallic atomizer after microwave-assisted extraction for inorganic arsenic speciation in biological samples**. *Talanta*, 104, 187-192, 2013.
- [82] D.P. TORRES, M.B. MARTINS-TEIXEIRA, E.F. SILVA, H.M. QUEIROZ. **Method development for the control determination of mercury in seafood by solid-sampling thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectrometry (TDA AAS)**. Food Additives & Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 29:4, 625-632, 2012.
- [83] MAITY, S.; CHAKRAVARTY, S.; THAKUR, P.; GUPTA, K. K.; BHATTACHARJEE, S.; ROY, B. C. **Evaluation and standardization of a simple HG AAS method for rapid speciation of As(III) and As(V) in some contaminated groundwater samples of West Bengal**. India. Chemosphere, 2004, v. 54, p. 1199 – 1206.
- [84] MORETTO, A.; CADORE, S. **Determination of arsenic in food samples by hydride generation – atomic absorption spectrometry**. Microchimica Acta, 2004, v. 146, p. 239 – 244.
- [85] BORTOLETO, G.G.; CADORE, S. **Determination of total inorganic arsenic in water using on-line pre-concentration and hydride generation-atomic absorption spectrometry**. *Talanta*, 2005, v. 67, p. 169 – 174.
- [86] FRENTIU, T.; VLAD, S.N.; PONTA, M.; BACIU, C.; KASLER, I.; CORDOS, E. **Profile distribution of As (III) and As (V) species in soil and groundwater in Bozanta Area**. Chemical Paper, 2007, v. 61, p. 186 – 193.
- [87] MACAROVSCHA, G.T.; BORTOLETO, G.G.; CADORE, S. **Silica modified with zirconium oxide for on-line determination of inorganic arsenic using**

a hydride generation-atomic absorption system. Talanta, 2007, v. 71, p. 1150 – 1154.

[88] PU, X.; CHEN, B.; HU, B. **Solvent bar microextraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry for the speciation of inorganic arsenic in water samples.** Spectrochimica Acta Part B, 2009, v. 64, p. 679 – 684.

[89] RIVAS, R.E.; LOPEZ-GARCIA, I.; HERNANDEZ-CORDOBA, M. **Speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters using dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry.** Spectrochimica Acta Part B, 2009, v. 64, p. 329 – 333.

[90] Jornal Oficial das Comunidades Europeias, **DECISÃO DA COMISSÃO de 12 de Agosto de 2002 que dá execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados, (2002/657/CE).**

 AcmeLabs Acme Analytical Laboratories (Vancouver) Ltd.
1020 Cordova St. East Vancouver BC V6A 4A3 Canada
Phone (604) 253-3158 Fax (604) 253-1716

Project: Project None Given
Report Date: May 29, 2011

Page: 3 of 3 Part: 3

GO11000647.1

This report supersedes all previous preliminary and final reports with this file number dated prior to the date on this certificate. Signature indicates final approval; preliminary reports are unsigned and should be used for reference only.