

**Avaliação e Otimização de Metodologias de Determinação do
Arsênio total, As(III) e As(V) em amostras de Água e Alimentos e a
Relevância dos Riscos por Ingestão**

Lísia Maria Gobbo dos Santos

**Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Fundação Oswaldo Cruz**

Dr^a Silvana do Couto Jacob

Rio de Janeiro

2004

FICHA CATALOGRÁFICA

Santos, Lisia Maria Gobbo

Avaliação e Otimização de Metodologia de Determinação do Arsênio total, As(III) e As(V) em amostras de Água e Alimentos e a Relevância dos Riscos por Ingestão. - 2004
xiii, 105f

Dissertação em Vigilância Sanitária, Prog. Pós-Graduação em Vigilância Sanitária,/ INCQS, 2004. Orientadora: Dr^a Silvana do Couto Jacob.

1.Arsênio.2 Água e Alimentos. 3.Validação de metodologia. 3.Absorção atômica 4.Especiação 5. Ingestão Provisional Máxima Tolerável – PTWI.

Avaliação e Otimização de Metodologia de Determinação do Arsênio total, As(III) e As(V) em amostras de Água e Alimentos e a Relevância dos Riscos por Ingestão.

*À minha família, mãe, pai e dinda ,
pelas orações, ajuda e confiança
em mim depositada..*

Ao meu namorado, Diego Panno, pela atenção, paciência e dedicação nos momentos mais difíceis e pela compreensão pelas horas subtraídas de nosso relacionamento.

“Quando nada parece ajudar, olho o cortador de pedras martelando a rocha talvez cem vezes sem que uma só rachadura apareça. Porém na centésima primeira a pedra se abre em duas e sei que não foi aquela a que conseguiu, mas todas as que vieram antes.”

Jacob A. Riis

AGRADECIMENTOS

Ao mestre dos mestres , Jesus Cristo, o Senhor e Salvador, toda a honra, toda a glória e todo o louvor pela realização e conclusão deste trabalho.

A minha orientadora Prof^{fa} Dr^a Silvana do Couto Jacob, pelo incentivo, apoio e paciência durante esses dois anos de estudo.

A minha mestre Prof^{fa} Dr^a Maria Goreti R. Vale, pelo apoio e confiança em mim depositada.

A todos do Laboratório de Contaminantes Inorgânicos do Departamento de Química INCQS/FIOCRUZ.

A todos os funcionários e chefes do Departamento de Informática do INCQS /FIOCRUZ.

A minha irmã, Carolina, por me compreender e me dar força e coragem pra não desistir.

A minha irmã, Clarissa, pelo exemplo de dedicação e perseverança.

A minha sogra, Sonia Padrão, pelo amor e carinho a mim dedicado.

A minha amiga, Bianca, e toda sua família por torcerem por mim pela conclusão deste trabalho e pelo companheirismo.

A toda a minha família pela força e torcida pela conclusão deste trabalho.

Ao CNPq pelo apoio financeiro, para a realização deste trabalho

A todos que direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho

RESUMO

Atualmente a contaminação da água e dos alimentos por substâncias químicas tóxicas é uma ameaça à qualidade de vida da população. Alguns destes poluentes como arsênio são reconhecidos como poluentes de grande significado e geram problemas de saúde permanente tanto em seres humanos como para o ecossistema. A toxicidade do arsênio varia de acordo com a espécie presente na água e alimento. O JECFA/FAO/WHO tem estabelecido um valor provisional da ingestão semanal tolerável (PTWI) deste contaminante de 0,015 mg por kg de peso corpóreo. Diante disto, a ANVISA estabelece limites máximos permitidos para os teores de arsênio total em água em suas diferentes utilidades bem como para diferentes produtos alimentícios.

Este trabalho tem como objetivo validar metodologias analíticas adequadas para o controle dos teores de arsênio total em água e em produtos alimentícios incluso na cesta básica dos brasileiros bem como estudar uma metodologia capaz de separar as espécies As(III) e As(V) de relevância toxicológica.

A Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS), foi utilizada após os parâmetros de validação terem sido estudados apresentando um limite de quantificação de $1 \mu\text{gL}^{-1}$, uma precisão média inferior a 15% e uma exatidão variando de 98% a 105% para água e alimentos, respectivamente.

As concentrações de arsênio total encontradas tanto em água como em alimentos apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira vigente.

Para quantificar as espécies químicas As(III) e As(V) utilizou-se uma resina de troca iônica (Dowex 1-X8, forma de Cl^- , Merck). Parâmetros físicos químicos foram otimizados, obtendo-se uma recuperação de As(III) de 98% e de As(V) de 90% para amostras de água enquanto em alimentos. (sucos de frutas e vinagre), observou-se interferência matricial.

Observou-se que uma elevada percentagem do valor toxicologicamente seguro para ingestão de arsênio total foi alcançado com o consumo dos poucos alimentos estudados o que demonstra a necessidade de uma reflexão quanto ao real significado dos limites máximos permitidos.

Abstrat

Water and food contamination by arsenic represents a serious threat to human health. Hence, in order to avoid deleterious effects of arsenic on humans, the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive (JECFA) propose a provisional tolerable weekly intake (PTWI) for total arsenic of $0,015 \text{ mgkg}^{-1}$ body weight.

The toxicity of arsenic depends of its chemical species. In general, the inorganic compounds are more toxic than the organic ones and also As(III) is more toxic than As(V). This difference in toxicity shows the importance of chemical speciation studies to understand the effect of any chemical element on the human organism. Taking this statement into consideration, the Codex Alimentarius Commission is promoting a discussion for establishing new limits of arsenic in food and also of the provisional tolerable weekly intake (PTWI).

The proposal of this work was the optimisation of an analytical methodology for determining total arsenic and inorganic species, As(III) and As(V) in water and food samples, contributing for this effort.

In this work, the concentration of total arsenic was determined using analytical graphite furnace atomic absorption spectrometry using Perkin Elmer system, SIMAA 6000. All parameters were validated according to INMETRO requirements.

The inorganic arsenic species are separated using Dowex 1-X 8 anion exchange resin and a recovery of 98% for As(III) and of 90% for As(V) were obtained for water samples. In the case of food analysis (vinegar and fruit juices) matrix interference was observed.

The consumption of these foods would be responsible for high percentage of the value accepted as secure for total arsenic intake reinforcing the necessity of revising the values accepted for Brazilian diet.

SUMÁRIO

	Página
Resumo	vii
Abstrat	viii
Lista de Abreviações	xii
CAPITULI 1-INTRODUÇÃO	1
1.1 Histórico	1
1.2 Elemento Arsênio	2
1.3 Ocorrência, Usos e Consumo	3
1.4 Toxicidade	5
1.5 Contaminação da Água	7
1.6 Contaminação de Alimentos	9
1.7 Vigilância Sanitária	12
CAPITULO 2- OBJETIVO DO PRESENTE TRABALHO	15
CAPITULO 3- MÉTODO INSTRUMENTAIS PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS	16
3.1 Espectrometria Atômica	16
3.2 Espectrometria de Absorção Atômica	17
3.3 Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite	19
CAPITULO 4- ESPECIAÇÃO DE ARSÊNIO	21
CAPITULO 5- PROCEDIMENTOS PARA ANALISE EXPERIMENTAL	24
5.1.Amostragem	24
5.2 Preparação das Amostras	26
5.3 Limpeza e Vidraria	26
5.4 Materiais e Reagentes	27
5.4.1 Vidraria e outros materiais utilizados nas análises	27
5.4.2 Equipamento e acessórios	27
5.4.3 Reagentes	28
5.5 Preparo das Soluções	29
5.5.1 Reagentes	29
5.5.2 Padrões	30
5.5.2.1 Estoque	30

5.5.2.2 Intermediaria	30
5.5.2.3 Para confecção da curva Analítica	30
5.6 Validação da Metodologia Analítica	31
5.6.1 Determinação para Arsênio Total	31
5.6.2 Estudo da Metodologia para Especificação do As(III) e As(V)	36
5.7 Controle Interno da Qualidade dos Resultados	37
5.8 Apresentação dos Resultados	39
5.9 Avaliação do Risco Proveniente da Ingestão de Arsênio presente nos alimentos estudados	40
CAPÍTULO 6 - RESULTADOS E DISCUSSÕES	41
6.1. Validação da Metodologia Analítica para Determinação de Arsênio total em água	41
6.1.1 Otimização	41
6.1.1.1 Estudo do Programa de Temperatura do forno de Grafite	41
6.1.1.2 Estudo da Escolha e Concentração do Modificador	42
6.1.2 Faixa de Trabalho	44
6.1.3 Linearidade	44
6.1.4 Sensibilidade	46
6.1.5 Limite de Detecção e Quantificação	46
6.1.6 Exatidão	47
6.1.7 Precisão	47
6.1.8 Robustez	48
6.2 Validação da Metodologia Analítica para Determinação de Arsênio Total em Alimento	49
6.2.1 Otimização	49
6.2.1.1 Estudo do Programa de Temperatura do forno de Grafite	49
6.2.1.2 Estudo da Escolha e Concentração do Modificado	49
6.2.2 Faixa de Trabalho	52
6.2.3 Linearidade	52
6.2.4 Sensibilidade	53
6.2.5 Limite de Detecção e Quantificação	53
6.2.6 Exatidão	53
6.2.6 Precisão	54

6.2.7 Robustez	54
6.3 Avaliação das Cartas Controle	55
6.4 Avaliação da Metodologia para Determinação do As total	58
6.5 Determinação de Arsênio Total	60
6.5.1 Água	60
6.5.2 Alimento	62
6.6 Estudo da Metodologia Analítica de Separação das Espécies de As(III) e As(V)	66
6.6.1 Influência do pH	68
6.6.2 Influência da vazão com que a amostra passa através da coluna	67
6.6.3 Influência do volume e concentração do HCl	69
6.6.4 Influência do volume de amostra	70
6.6.5 Precisão	71
6.7 Estudo da Possibilidade de separar as Espécies As(III) e As(V) em Água	73
6.8 Estudo da Possibilidade de separar as Espécies As(III) e As(V) em Alimento	73
6.8.1 Vinagre	73
6.8.2 Suco de Uva	75
6.9 Avaliação da Exposição Crônica por Ingestão de Arsênio	76
CAPITULO 7- CONCLUSÃO	78
CAPITULO 8 - TRABALHOS FUTUROS	80
CAPITULO 9 -REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
ANEXO 1 - Tabelas: Produtos e Marcas, e do IBGE	88
ANEXO 2 - Tabelas Estatísticas	90
ANEXO 3 - Figuras dos picos de absorção	93
ANEXO 4 -Gráficos da Curva de Adição Padrão das Amostras de Alimentos	98

Lista de Abreviações

MMA	Ácido Metilarsênico
DMA	Ácido Dimetilarsênico
MSMA	Metanoarseniato ácido Monossódico
TGI	Trato gastrintestinal intacto
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
MS	Ministério da Saúde
USA-EPA	Agência Americana de Proteção Ambiental
JECFA	Joint Expert Committee on Food Additives
FAO	Food and Agriculture Organization
WHO	World Health Organization
OMS	Organização Mundial da Saúde
PTWI	Provisional Tolerable Weekly Intake
NESHAPS	National Emission Standards for Hazardous Air Pollutants
FDA	Food and Drug Administration
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CAF	Companhia Argentífera Furnas (CAF)
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
NOAEL	No Observable Adverse Effect Level
SUS	Sistema Único de Saúde
CDC	Código de Defesa do Consumidor
LOS	Lei Orgânica da Saúde
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite
EDL	Lâmpada de descarga sem eletrodo
HCL	Lâmpada de catodo oco
STPF	Stabilized Temperature Platform Furnace
<i>pKa</i>	Constante de Dissociação
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
DQ	Departamento de Química
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
NIST	National Institute of Standards and Technology
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

<i>IUPAC</i>	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
<i>ISO/CD</i>	<i>International Organization for Standardization</i>
<i>VMP</i>	<i>Valor Máximo permitido</i>
<i>FT</i>	<i>Faixa de Trabalho</i>
<i>LD</i>	<i>Limite de Detecção</i>
<i>LQ</i>	<i>Limite de Quantificação</i>
λ	<i>Comprimento de onda</i>
<i>tg α</i>	<i>Coefficiente angular da curva</i>
<i>RSD</i>	<i>Desvio Padrão Relativo</i>
σ	<i>Desvio padrão</i>
<i>teste t</i>	<i>Teste de t de Student – teste para comparação de média</i>
<i>teste F</i>	<i>Teste F de Snedecor – teste de variância</i>
<i>teste C</i>	<i>Teste de Cochran – teste para confirmar a linearidade</i>
<i>ESM</i>	<i>Erro sobre a média</i>
<i>I.C</i>	<i>Intervalo de Confiança</i>
<i>s</i>	<i>Desvio Padrão</i>
S^2	<i>Variância</i>
<i>IDTM</i>	<i>Ingestão Diária Máxima Tolerável</i>
<i>LM</i>	<i>Limite Máximo</i>
R^2	<i>Coefficiente de Correlação da Curva</i>
<i>Abs</i>	<i>Absorvância Integrada</i>
<i>HD</i>	<i>Água de Hemodiálise</i>
<i>Molar</i>	<i>Unidade de concentração molL⁻¹</i>
$^{\circ}\text{C}$	<i>Graus Centígrado</i>
<i>nm</i>	<i>nanômetro</i>
<i>%</i>	<i>Percentual</i>
<i>pg</i>	<i>picograma</i>
μg	<i>micrograma</i>
<i>mg</i>	<i>miligrama</i>

1. INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO

O arsênio elementar foi descrito pela primeira vez por Paracelso por volta de 1520 D.C. (Magalhães, 1996). A partir daí começou a ser escrita a trágica história de envenenamentos, homicídios e suicídios por arsênio. A popularidade de seu uso, para esses fins, estaria mais relacionada à sua disponibilidade a baixo custo e ao fato de ser inodoro e sem gosto, do que à sua eficácia tóxica propriamente dita. Um dos casos mais documentado de envenenamento por arsênio relatado na nossa História, está relacionado à morte de Napoleão, que foi associada a um medicamento à base de arsênio e selênio usado para tratar a sua dor de estômago crônica. Durante uma autópsia realizada em 1821 foi constatada a presença de câncer em seu estômago, sendo esta, a possível causa de sua morte (Baroni, 1997; Feldmann, 2001).

A popularidade do arsênio, como veneno, começou a declinar a partir da segunda metade do século XVIII quando passou, então, a ser utilizado como remédio para tratar de vários tipos de doenças, como por exemplo, doenças da pele, nevralgias, malária, sífilis e epilepsia. Neste período ele foi tão, amplamente, utilizado como remédio que chegou a ser considerado uma porção mágica e responsável por mágicas “curas” (Feldmann, 2001).

Apesar do arsênio ter estado associado a envenenamentos criminosos e a porções mágicas por muitos séculos, o tópico de interesse hoje, é a sua contribuição na poluição do meio ambiente através das suas várias formas de utilização. Ele é um elemento, extremamente, tóxico porque seus íons ou compostos são solúveis em água e podem ser, prontamente, absorvidos pelo organismo humano, onde tende a se combinar, inibindo a função de certas enzimas. A presença deste elemento, nos organismos vivos, pode ser prejudicial e seus efeitos tóxicos podem gerar problemas de saúde permanentes, tanto em seres humanos como para o ecossistema.

1.2 ELEMENTO ARSÊNIO

O arsênio pertence ao subgrupo do vanádio no sistema periódico, onde está abaixo do fósforo e acima do antimônio. É classificado como um metalóide, pois apresenta características tanto de um metal como de um não-metal. Ele é frágil, cristalino, incolor, inodoro e, sob aquecimento, oxida-se rapidamente para óxido arsenioso. Apresenta-se em duas formas alotrópicas: o cinza metálico e o amarelo, e, ocasionalmente, pode ser encontrado na forma livre, porém é mais freqüente encontrá-lo sob a forma de mineral. O mineral mais comum e rico em arsênio é a arsenopirita (FeAsS).

O arsênio ocorre em vários estados de oxidação (-3, 0, +3 e +5), podendo estar tanto na forma inorgânica como orgânica. As formas inorgânicas incluem o meta arsenito trivalente, As(III), e o arsenato pentavalente, As(V). As formas orgânicas mais comuns são os metabólitos metilados como o ácido metilarsênico (MMA) e o ácido dimetilarsênico (DMA) (Stanley, 2000; Jain, 2000). O grau de toxicidade dos compostos de arsênio varia de acordo com sua forma química e diminui na seguinte ordem: arsina (-3) → derivados orgânicos da arsina → arsênio inorgânico (+3) → arsênio orgânico (+3) → arsênio inorgânico(+5) → compostos orgânicos pentavalentes → compostos de arsênio e, por último, o arsênio elementar (Viraraghavan, 1989).

Para o entendimento do papel do elemento arsênio, sobre os organismos vivos, é necessário o conhecimento de sua especiação química (Jain,2000; Lamblew,1996).

Para a especiação do arsênio, métodos que envolvem técnicas de espectroscopia, tais como Absorção Atômica com Chama, com Forno de Grafite e com Geração de Hidreto são os mais usados (Jain, 2000; Anderson, 1986).

1.3 OCORRÊNCIA, USOS E CONSUMO

O arsênio é um elemento presente, naturalmente ou pela atividade humana, no solo, na água, no ar e nos alimentos. O arsênio pode ser obtido, como subproduto, do tratamento de minérios de ouro, prata, cobalto, níquel, chumbo, cobre e antimônio.

Na natureza, existem mais de 200 espécies minerais onde o componente principal é o arsênio (Azevedo, 2003). Alguns compostos arsenicais são, relativamente, voláteis e contribuem para a contaminação ambiental. Cerca de 73.540 toneladas de arsênio são liberados, por ano, para o meio ambiente, das quais 60% são de origem natural, principalmente das erupções vulcânicas, (WHO, 2001) e o restante são de fontes antropogênicas.

As principais fontes antropogênicas de contaminação ambiental são provenientes da fundição de metais não ferrosos, da produção de energia pela combustão de fósseis ou carvão, da produção e do uso de agrotóxicos arsenicais para preservação da madeira e dos rejeitos de mineração (Jain, 2000;).

Dentre os compostos arsenicais, mais utilizados, podemos destacar o trióxido de arsênio (As_2O_3) que se destina à preservação da madeira, evitando a sua deterioração e o ataque de insetos. A mistura mais comum é a que contém CrO_3 , CuO e As_2O_3 conhecida como CCA (Liang, 1998). O As_2O_3 também é usado, juntamente com o ácido arsênico, como descolorante, clareador e dispersante de bolhas de ar na produção de garrafas de vidro e outras vidrarias. O arsênio metálico é usado na produção de ligas não-ferrosas, principalmente ligas de chumbo, para fabricação de baterias e para melhorar a resistência do latão à corrosão. Os compostos intermetálicos são usados na fabricação de semicondutores, incluindo diodos de emissão de luz e laser, circuitos integrados e células solares (Azevedo, 2003).

Os compostos inorgânicos de arsênio foram usados, na agricultura, nas culturas de algodão, maçã e batata, no combate às pragas da metade do século XIX até meados do século XX. Posteriormente, a sua utilização caiu em desuso devido à sua alta toxicidade e ao aparecimento de outros agrotóxicos orgânicos mais eficientes. No entanto, nos Estados Unidos, ainda hoje, é permitido alguns agrotóxicos organoarsenicais (Gunderson, 1995).

No Brasil, o herbicida organoarsenical, metanoarseniato ácido monossódico (MSMA), comercialmente conhecido como Daconate, de curta persistência, é autorizado para aplicação nas culturas de ervas daninhas de café, algodão, cana-de-açúcar e cítrus. Também, o ácido p-

aminofenilarsônico é usado, sendo misturado nas rações para aves e suínos, como promotor do crescimento e no controle de enteropatites em perus (WHO, 2001).

Apesar dos prejuízos provocados ao meio ambiente e à saúde humana, pelos diversos usos dos compostos arsenicais, a sua produção e seu consumo continuam crescendo. Hoje, os Estados Unidos são um dos maiores importadores de arsênio do mundo e o consumo, neste país, em 1998 foi cerca de 27.000 toneladas (USGS, 2001). A produção mundial de trióxido de arsênio, no ano de 2000, foi estimada em 33.900 toneladas. Atualmente, a China é a maior produtora com 40% da produção mundial. No Brasil, a importação de compostos químicos arsenicais, no ano de 2000, foi de 1.357 toneladas, com um custo de 1,808 milhões de dólares, significando um aumento de 62,5% na importação em relação ao ano de 1999 (Anderson, 1986; USGS, 2001).

1.4 TOXICIDADE

Em 1988, a Agência Americana de Proteção Ambiental (USA-EPA), concluiu que o arsênio é um elemento carcinogênico do grupo A, conhecido por causar câncer de pele, bexiga e pulmão. Ele pode atravessar a barreira placentária, produzindo morte fetal e má formação em muitas espécies animais, incluindo ao homem. A exposição humana ao arsênio pode ser de várias maneiras, sendo através da água de beber uma das mais importantes. Para proteger a saúde e avaliar os efeitos crônicos do arsênio é necessário quantificar a concentração do elemento em água e em outras fontes de contaminação (Apostoli, 2001; Liang, 1998).

Dois tipos de toxicidade, aguda e sub-aguda, são conhecidas há muito tempo. A intoxicação aguda requer um atendimento médico imediato, e, usualmente, ocorre através de ingestão de comida ou bebida contaminadas. A intoxicação sub-aguda pode estar relacionada à ingestão de alimentos contaminados de forma inadvertida ou propositalmente, à ingestão de água contaminada por ação geológica natural ou por ação industrial próxima.

Bioquimicamente, o arsênio atua coagulando proteínas, formando complexos com coenzimas e inibindo a produção de adenosina trifosfato (ATP) em processos metabólicos que envolvam a utilização de energia (Stanley, 2000). Entretanto, os mecanismos de ação tóxica diferem conforme a forma química e o estado de oxidação do arsênio.

A absorção dos compostos inorgânicos de arsênio tanto por via inalatória quanto por via digestiva está associada a sua solubilidade em água (Marafante, 1987). Estes compostos têm ótima taxa de absorção pelo trato gastrointestinal intacto (TGI), variando de 55 a 95%, dependendo se é arsenito ou arsenato. Formas insolúveis de arsênio, como As_2Se_3 , são, praticamente, não absorvíveis pelo TGI.

Os estudos sobre absorção de metais e metalóides utilizam, em geral, a metodologia de verificar a taxa de recuperação dos elementos ou de seus metabólitos, na urina ou nas fezes, após a ingestão, inalação ou contato dérmico (Azevedo, 2003).

Os compostos solúveis de arsênio inorgânico, depois de absorvidos, são distribuídos para praticamente todos os órgãos e tecidos do corpo. Estudos realizados em autópsias de pessoas sujeitas à exposição não - ocupacional, mas que tenham ingerido alimentos contaminados ou água contaminada por arsênio, mostram que existe uma tendência a altas concentrações em tecidos com queratina, como cabelo e unhas e, tendência oposta, a pouca deposição e acúmulo, em vísceras, por exemplo, (Basu, 2001). A hierarquia de depósito de arsênio nos órgãos poderia

ser definida na seguinte ordem: fígado → rins → músculos → coração → baço → pâncreas → pulmões → cérebro (cerebelo → tecido encefálico) → pele → sangue (Benramdanel, 1999).

Diferentemente de outros metais de importância toxicológica, como o chumbo e o cádmio, o arsênio sofre biotransformação, envolvendo basicamente dois processos. Um deles é a conversão de As(III) em As(V) por reação de oxi-redução. O outro processo envolve a metilação do arsênio, principalmente, nas células hepáticas com produção de dois metabólitos básicos: o MMA e o DMA. Esse processo de metilação parece diminuir a toxicidade do arsênio inorgânico absorvido, pois as formas orgânicas metiladas apresentam menor toxicidade e são mais facilmente excretáveis pela urina. Porém alguns estudos, mais recentes, apontam para uma possível toxicidade direta quanto a carcinogênese e nefrotoxicidade, das formas metiladas em animais de experimentação, em níveis semelhantes às formas inorgânicas não metiladas (Yamanaka, 1996). A principal via de excreção no ser humano é a urina, e apenas uma quantidade mínima é excretada via bile.

Conforme o que foi relatado e devido ao perigo que este elemento representa para a saúde humana e para o meio ambiente, as organizações internacionais estabelecem como limite máximo, para a presença de arsênio total em água potável, o valor de $50 \mu\text{gL}^{-1}$ (Welz, 1999). Devido ao elevado grau de toxicidade do arsênio inorgânico, que pode contribuir para diversos tipos de câncer, vem sendo estabelecido pelo Comitê de Especialistas sobre Aditivos em Alimentos da Organização Mundial de Saúde (JECFA/FAO/WHO), um valor provisional de ingestão semanal máxima tolerável – PTWI – de $0,015\text{mg}$ por Kg de peso corpóreo. O CODEX ALIMENTARIUS alterou o limite máximo de $50 \mu\text{gL}^{-1}$ para $10 \mu\text{gL}^{-1}$ para a presença de arsênio em água, conforme os últimos guias da Organização Mundial da Saúde, sendo assim, Vigilância Sanitária – ANVISA, órgão responsáveis pelo controle de substâncias tóxicas na água e alimentos alterou, também, o limite de arsênio de $50 \mu\text{gL}^{-1}$ para $10 \mu\text{gL}^{-1}$. O arsênio está, também, listado juntamente com outras sete substâncias pela National Emission Standards for Harzardous Air Pollutants (NESHAPS) como um dos mais perigosos poluentes atmosféricos (Nebel, 1996; Brown, 2000).

1.5 CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS

A contaminação da água é a alteração da sua qualidade natural provocada pela ação do homem e que faz com que ela seja, parcial ou totalmente, imprópria para o uso a que se destina. Entre as maiores fontes de contaminação da água, estão as substâncias tóxicas provenientes das atividades industriais. Mais especificamente, a ocorrência de contaminação da água, por arsênio, objeto do nosso estudo, tem sido constatada, nesses últimos anos, em várias partes do mundo (Bennet, 2000; Berg, 2001; Mclellan, 2002; Chakraborti, 2002; Andrew, 2003).

No Brasil, pouco se sabe sobre a ocorrência de arsênio em água, no entanto, no Rio de Janeiro, em 1995, na Baía de Sepetiba foram encontradas concentrações de arsênio em sedimentos que variaram de 55 a 65 mgkg⁻¹ (Magalhães, 1995). Segundo as últimas informações do Ministério Público Federal, o mar, a fauna e a flora da baía de Sepetiba foram, também, contaminados por zinco, cádmio, chumbo e diversos outros metais oriundos dos rejeitos químicos da Companhia Mercantil e Industrial Ingá, que faliu na década de 90. Constatou-se que o manguezal e o lençol freático foram, também, atingidos (Magalhães, 1996).

No Amapá, o lençol freático da Vila de Santana, a 30 km de Macapá e áreas ao norte do Estado, no município de Serra do Navio, foram contaminados por arsênio, devido ao lançamento de rejeitos produzidos durante o processamento de minério de manganês, pela Indústria e Comércio de Minério (Goldin, 2000).

Em Nova Lima, Minas Gerais, foram encontrados, nas águas do Ribeirão Cardoso, níveis médios de arsênio da ordem de 487 µgL⁻¹. Esses valores elevados são decorrentes da drenagem dos rejeitos da mineração do ouro. Já na região de Brumal, a concentração de arsênio encontrada foi baixa, uma média de 1,9 µgL⁻¹, indicando que não houve influência da atividade humana (Matschullat, 2000).

Em São Paulo, um estudo realizado pelo CETESB, em 1996 no Rio Ribeirão de Iguape, determinou níveis de arsênio que variaram de 20-30 µgL⁻¹, em águas empoçadas junto aos rejeitos de mineração da companhia Argentífera Furnas (CAF) e nos efluentes do Ribeirão Furnas. O reconhecimento do risco potencial que representa a contaminação das águas e ausência de um tratamento específico, levou a criação, em todo o mundo, de vários órgãos e comissões que acabaram estabelecendo critérios e normas para a composição adequada da água a ser utilizada na Diálise. Entre essas normas, podemos destacar as da Comunidade Européia e as do Advancement of Medical Instrumentation (AAMI) dos EUA, ambas estabelecidas em 1982.

No Brasil, o Ministério da Saúde controla a qualidade da água potável e a água utilizada para o tratamento de diálise, através da Vigilância Sanitária.

Em função disso, e por ser fundamental para a vida, a água deve receber cuidados especiais. Portanto, um conjunto de atos de caráter normativo e organizacional fixam padrões de identidade e qualidade para águas minerais, águas naturais de fontes e águas tratadas para diversos usos. Estes padrões visam, fundamentalmente, o controle de substâncias potencialmente prejudiciais à saúde humana como microorganismos patógenos, substâncias tóxicas e radioativas. Segundo a Resolução nº 20 de 18 de junho de 1986 do Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA, as águas são classificadas em nove grupos, segundo as suas características físicas, químicas e biológicas. Neste trabalho estudamos três tipos de água, em função da identificação destes parâmetros e do uso a que se destinam, são estabelecidos os limites para a presença de substâncias tóxicas na água, como mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Legislações relacionadas ao controle da qualidade da água.

Tipo de água	Legislações	LM – Arsênio
Água de abastecimento	CONAMA – Resolução nº 020, de 18 de Junho de 1986 – Estabelece classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional.	50 µgL ⁻¹
Água destinada ao consumo Humano	ANVISA – MS Portaria nº 518, de 25 de março de 2003 – Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, além de outras providências.	10 µgL ⁻¹
Água purificada para Hemodiálise	ANVISA - MS Portaria nº 82, de 03 de janeiro de 2000 – Estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos serviços de diálise e as normas para cadastramento destes junto ao Sistema Único de Saúde.	5 µgL ⁻¹

1.6 CONTAMINAÇÃO DOS ALIMENTOS

Nas duas últimas décadas foi feito muito progresso no entendimento das formas e concentrações do arsênio em alguns alimentos. O foco das primeiras pesquisas foi o arsênio em organismos aquáticos, muitos dos quais contêm concentrações de arsênio total duas a três vezes maiores que as encontradas em alimentos de origem terrestre.

As formas de arsênio presentes em alimentos de origem terrestre, geralmente de origem inorgânica, não estão bem caracterizadas devido a sua ocorrência em concentrações muito baixas, da ordem de μgkg^{-1} em contraste com as formas metiladas encontradas em frutos do mar, que ocorrem em concentrações de mgkg^{-1} , e, por isso, têm sido mais amplamente pesquisadas (Das 2003; Schoof, 1998; Burlo, 1999).

Na Índia, desde 1983, vêm sendo relatados casos de contaminação da água por arsênio. Em Bangladesh, estima-se que 300.000 pessoas de um total de 36 milhões já morreram de câncer devido à contaminação das águas por arsênio cuja concentração é superior a $2000 \mu\text{gL}^{-1}$. As águas contaminadas são usadas para beber e para irrigar plantações; particularmente, os arrozais que correspondem a mais ou menos 70% da economia de Bangladesh. A concentração de arsênio encontrada em amostras de arroz foi de 4 a 8mgkg^{-1} e, nas áreas mais contaminadas, a concentração chegou a 83mgkg^{-1} (Andrew, 2003). Na cidade de Lakshmipurno, leste de Bangladesh, onde a população é de 1,2 milhões de pessoas, 85% da população apresentam concentrações de arsênio superior a $50 \mu\text{gL}^{-1}$, dados revelados por um estudo realizado em agosto de 2001, enquanto que em 1997, tinha sido determinado que 73% da população estava contaminada, isto é, em quatro anos, houve um aumento de mais ou menos 15% (Charkraborti, 2002). O grande desafio, ainda, é descobrir as fontes de contaminação que continuam obscuras, causando danos à saúde desta população e, também, de outros países (Das 2003).

Os Estados Unidos também têm sofrido com problemas de contaminação da água e de alimentos, por arsênio. Um dos casos mais recentes ocorreu em algumas regiões de Wisconsin, onde foi constatada a contaminação de plantações de arroz, sendo que as concentrações encontradas nestas plantações variavam em torno de 2mgkg^{-1} a 5mgkg^{-1} (Benmett, 2000).

Em Nevada, um estudo feito entre 1979 e 1999, relata um alto índice de câncer em crianças expostas à água contaminada tendo, a concentração de arsênio aí encontrada, variado de $10 \mu\text{gL}^{-1}$ a $90 \mu\text{gL}^{-1}$ (Moore, 2002).

Estes não são casos isolados, existem várias regiões da Ásia como China, Tailândia, Taiwan cujo consumo de arsênio é de 0,002 mg/dia, podendo chegar a 0,03 mgkg⁻¹. Isto se dá devido a plantações de arroz contaminadas (Schoof, 1998). No Vietnam, que tem uma das maiores densidades populacional, milhões de pessoas correm os riscos de uma intoxicação crônica de arsênio devido à contaminação do delta do Rio Vermelho, onde a concentração de arsênio varia de 1 a 3050 µgL⁻¹, sendo que 89% das cidades rurais estudadas possuem concentrações de arsênio superior ao limite estabelecido pelas legislações que é de 10 µgL⁻¹ (Berg, 2002).

Estudo realizado na Espanha (Guijarro, 1999), mostrou que o arsenito de sódio (NaAsO₂) e arsenato de chumbo são usados, freqüentemente, em plantações de tomate. A concentração média de arsênio, em peso úmido, detectada foi de 1mgkg⁻¹, considerando que a média de água no tomate é em torno de 90%. O limite, no peso seco, é de 10 mgkg⁻¹. As concentrações encontradas, em peso seco, foram de 0 - 5 mgkg⁻¹ de arsênio inorgânico e de 0 - 26 mgkg⁻¹ para as formas orgânicas de arsênio. Isto mostra que os pesticidas usados nas plantações, tanto na forma orgânica como inorgânica, se acumulam nos vegetais e frutas tornando-os tóxicos para os seres humanos (Burlo, 1999).

Na América Latina foram relatados casos de contaminação da água por arsênio como o ocorrido no México, onde foram encontradas concentrações de arsênio que variavam de 30 a 40 µgL⁻¹ e, onde, a população apresentava graves lesões de pele (Loffredo, 2003).

Com base nos últimos estudos realizados sobre a contaminação de arsênio em alimentos o Comitê de Especialistas sobre Aditivos em Alimentos da Organização Mundial da Saúde (JECFA/FAO/WHO) sugeriu um valor provisório, para ingestão semanal máxima tolerável (PTWI) de arsênio inorgânico de 0,015 mgkg⁻¹ de peso corpóreo, o que corresponde a uma ingestão diária, onde não são observados efeitos adversos (NOAEL) de cerca de 0,0021 mgkg⁻¹ (para um indivíduo de 60 kg) (FDA; Dabeka, 1993; Doudhert, 2000).

Em função do risco que representa à saúde a ingestão de arsênio, a Comissão do CODEX ALIMENTARIUS sugeriu, para trabalhos futuros, um estudo epidemiológico em pessoas exposta a níveis elevados de arsênio inorgânico que ocorre naturalmente em água e alimentos, principalmente, de origem terrestre. Assim como um estudo envolvendo a saúde de consumidores cuja dieta se baseia em frutos do mar.

Segunda a 34^a sessão do Comitê do CODEX para Aditivos Alimentares e Contaminantes realizada na Holanda entre os dias 11 e 15 de março de 2002, a prioridade do JECFA para 2003

seria o estudo de contaminantes que ocorrem naturalmente em água e alimentos. Entre estes a prioridade é o arsênio por ser o único que tem o seu efeito carcinogênico comprovado em seres humanos. Na 35ª sessão que foi realizada em Arusha, Tanzânia, entre os dias 17 e 21 de março de 2003, a prioridade de se avaliar a contaminação por arsênio passou para o ano de 2004. Enquanto isto os estudos sobre a contaminação por este elemento continuam e, cada vez, mais se confirma a toxicidade e o risco que este representa para saúde da população mundial.

No Brasil, as legislações vigentes que estabelecem os limites máximos de tolerância para arsênio em alimentos são a Portaria nº685, de 27 de agosto de 1998 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde; decreto nº 55871 de 26 de março de 1965. Os limites estabelecidos pela portaria nº685 estão indicados na Tabela 2 e, para todos os outros alimentos que não foram citados nesta portaria, é adotado, como limite máximo, o valor de 1mgkg^{-1} de acordo com o decreto nº 55871.

Tabela 2 – Limites máximos de tolerância para arsênio em alimentos (mgkg^{-1}).

Alimentos	Limite máximo de arsênio (mgkg^{-1})
Gorduras vegetais e emulsões	0,1
Gorduras hidrogenadas	0,1
Açúcares, caramelos e balas	1,0
Bebidas aHCLólicas fermentadas e fermento-destiladas	0,1
Cereais e produtos de cereais	1,0
Gelados comestíveis	1,0
Ovos e produtos de ovos	1,0
Leites e fluídos pronto para o consumo.	0,1
Mel	1,0
Peixes e produtos de peixe	1,0
Chá, mate, café e derivados.	1,0
Demais alimentos*	1,0

Fonte: Portaria nº685, de 27 de agosto de 1998 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde; * Decreto nº 55871 de 26 de março de 1965.

1.7 VIGILÂNCIA SANITÁRIA

A Vigilância Sanitária pode ser entendida como a área da Saúde Pública que trata das diversas formas de ameaças à saúde, oriundas, principalmente, do uso de novos materiais, produtos e tecnologias, presentes na vida contemporânea. Na verdade, ao longo de sua existência, os seres humanos conseguiram criar inúmeros produtos e desenvolver diversas técnicas e serviços para facilitar e prolongar sua vida. Mas sempre existe o outro lado da moeda. As mesmas invenções que causam o bem podem ser usadas erroneamente, causando sérios danos à saúde ou até mesmo a morte.

As primeiras atividades da Vigilância Sanitária, no Brasil, começaram no final do século XVIII para evitar a propagação de doenças, mas foi só no final do século XX, com as descobertas nos campos da bacteriologia e da terapêutica, que a Vigilância Sanitária sofreu uma reestruturação. Entre as décadas de oitenta e noventa a Vigilância deu um grande salto, sendo que, entre as suas principais realizações, podemos destacar as seguintes:

Década de 80: Conferência Nacional de Saúde do Consumidor; a criação do Conselho Nacional de Defesa do Consumidor, em 1988; o Sistema Único de Saúde (SUS). O Sistema Único de Saúde proclama o direito de todos à saúde como um direito fundamental do ser humano sendo, este, uma atribuição comum da União, dos Estados, do Distrito Federal e dos Municípios, considerando de relevância pública as ações e serviços de saúde. O artigo nº 200 do SUS destaca a Vigilância Sanitária como obrigação do Estado por meio da enunciação das atribuições do Sistema Único de Saúde, cuja maioria compõem-se, exatamente, por ações do campo de abrangência da Vigilância Sanitária.

Dentre as atribuições relativas à Vigilância Sanitária destacam-se:

I - controlar e fiscalizar procedimentos, produtos e substâncias de interesse para a saúde e participar da produção de medicamentos;

II - executar as ações de vigilância sanitária e epidemiológica, bem como às de saúde do trabalhador;

III - ordenar a formação de recursos humano na área de saúde;

IV - participar da formulação da política e da execução das ações de saneamento básico;

V - incrementar, em sua área de atuação, o desenvolvimento científico e tecnológico;

VI - fiscalizar e inspecionar alimentos, compreendido o controle do seu teor nutricional, bem como bebidas e água para consumo humano;

VII - participar do controle e fiscalização da produção, transporte, guarda e utilização de substâncias e produtos psicoativos, tóxicos e radioativos;

VIII - colaborar na proteção do meio ambiente, nele compreendido o do trabalhador.

Década de 90: Caracterizou-se por um aumento da participação da sociedade civil e pela visão da Vigilância Sanitária como ação da cidadania, centrada no enfoque do risco. Neste período começou a ser formulado o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária. Em 1990, com a Lei 8078, foi promulgado o Código de Defesa do Consumidor (CDC), reafirmando a responsabilidade do produtor pela qualidade do produto e serviços, quando, paralelamente, a Lei 8080/90 dá conformação ao Sistema Único de Saúde, pactuando a nova ordem jurídica no país. Esta Lei 8080 de 19 de setembro de 1990 é a Lei Orgânica da Saúde (LOS). A LOS, juntamente com a Lei 6360/76, a Lei 5991/73, que visa o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos e seus regulamentos, e o Decreto Lei 986/69, denominado Normas Básicas sobre Alimentos, passaram a constituir-se referências da produção normativa.

A **Lei nº 8080** incorpora os principais ditames constitucionais como: a saúde como direito de todos e dever do Estado; o conceito ampliado de saúde referida à sua determinação social; o Sistema Único de Saúde segundo os princípios finalísticos de universalidade, equidade e integralidade da atenção; incorporação do modelo epidemiológico; descentralização política-administrativa sob mando único em cada esfera de governo; direito à informação, participação e controle social.

Em 1999 foi criada a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) em substituição à antiga Secretária Nacional de Vigilância Sanitária.

A ANVISA é definida como sendo uma agência reguladora, vinculada ao Ministério da Saúde, caracterizada pela independência administrativa, pela estabilidade de seus dirigentes no período de mandato e pela autonomia financeira. Sua finalidade institucional é promover a proteção da saúde da população por intermédio do controle sanitário da produção e da comercialização de produtos e serviços, submetidos à Vigilância Sanitária, inclusive, seus ambientes e processos. Também cabe a ela o controle de portos, aeroportos e fronteiras e a interlocução, junto ao Ministério das Relações Exteriores e instituições estrangeiras, dos assuntos internacionais na área da Vigilância Sanitária. Ela é responsável, entre outras atribuições, pela concessão do certificado de cumprimento de boas práticas de fabricação, pelo monitoramento de preços de medicamentos e de produtos para saúde, pela regulamentação, controle e fiscalização da produção de derivados do tabaco, pelo suporte técnico na concessão de patentes pelo Instituto

Nacional de Propriedade Industrial (INPI) e pelo controle da propaganda de produtos sujeitos ao regime da Vigilância Sanitária.

No mundo globalizado em que vivemos, somos cada vez mais incentivados a consumir produtos e serviços sobre os quais pouco sabemos. Na busca incessante do lucro, empresas e profissionais acabam expondo os indivíduos e a sociedade a riscos desnecessários. Se a proteção e a promoção da saúde e do bem-estar da população é um dever do Estado, cabe a ele a tarefa de impedir ou regular as atividades de particulares que possam significar risco para a saúde pública.

O Poder Público, portanto, deve zelar pelos interesses coletivos, ainda que isso implique na restrição de direitos e liberdades individuais. A Vigilância Sanitária, como uma função típica do Estado, pode punir quem desrespeita as normas estabelecidas em nome da proteção da saúde da população. Mas, mais que punir, a Vigilância Sanitária deve regular, vigiar, educar, orientar, advertir e, só em última instância, punir.

2. OBJETIVO

O principal objetivo deste trabalho é estudar os teores de arsênio total, arsênio (III) e arsênio (V) em amostras de água e produtos da cesta básica dos brasileiros, de modo a contribuir para melhor avaliação dos riscos à saúde.

Para alcançar tal objetivo o trabalho foi organizado da seguinte maneira:

1. Implementação e Validação da metodologia Analítica para detecção e quantificação de Arsênio total por Espectrometria de absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS);
2. Determinação dos teores de Arsênio total em amostras de água e alimentos inclusos na cesta básica dos brasileiros;
3. Estudo da Metodologia Analítica de separação das espécies As(III) e As(V).;
4. Estudo da possibilidade de separar as espécies As(III) e As(V) em água e alimentos líquidos;
5. Avaliação do risco proveniente da ingestão de arsênio presente nos alimentos estudados;

3. MÉTODOS INSTRUMENTAIS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS

3.1 ESPECTROMETRIA ATÔMICA

A espectrometria atômica é a técnica mais usual para determinação de metais. Essa técnica envolve radiação eletromagnética que pode ser absorvida e/ou emitida pelos átomos da amostra, sendo baseada na quantificação de espectros de linhas finas, bem definida, que surgem da transição eletrônica dos elétrons da camada mais externa do átomo. A amostra a ser analisada é decomposta por intenso calor em nuvens de gases, produzindo átomos livres capazes de absorver, emitir ou fluorescer em comprimentos de ondas característicos, produzindo espectros atômicos.

Cada elemento tem seu conjunto de níveis de energia característico e, portanto, o seu conjunto único de espectros de absorção e emissão. A região ultravioleta/visível do espectro eletromagnético é a região mais usada na espectrometria atômica (Skoog, 1998).

Em função do fenômeno ocorrido, pode-se classificar a espectrometria atômica em três tipos de técnicas diferentes, que são a espectrometria de absorção atômica, a espectrometria de emissão atômica e a espectrometria de fluorescência atômica. Neste trabalho foi utilizada a técnica de espectrometria de absorção atômica.

3.2 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

Nessa técnica, o átomo no estado fundamental absorve energia luminosa de uma fonte de radiação que emite um comprimento de onda específico para cada elemento a ser determinado. Essa fonte emite exatamente nos comprimentos de ondas que podem ser absorvidos pelo analito, sendo assim o monocromador não precisa ser de alta resolução, pois a largura da linha que vai ser absorvida é definida pela fonte, e não pelo monocromador. O fato de ser realizada a análise em uma linha bem definida confere ao método uma grande seletividade.

A fonte de radiação que é usada para excitar os átomos pode ser lâmpada de cátodo oco (HCL) ou lâmpada de descarga sem eletrodos (EDL). Neste trabalho, foi utilizada uma lâmpada de descarga sem eletrodos. A Figura 1 mostra o esquema da lâmpada de descarga sem eletrodos do tipo utilizado.

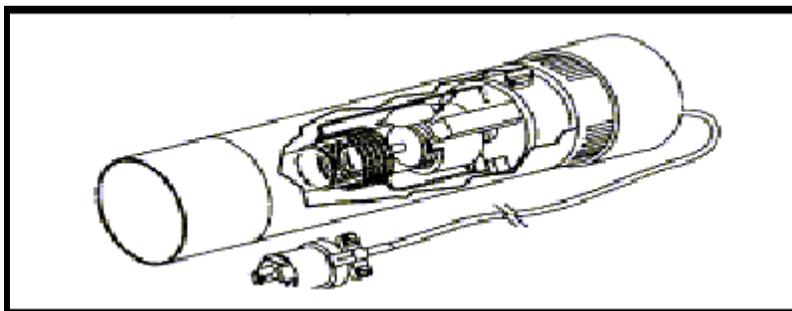


Figura 1 – Lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL)

As lâmpadas de descarga sem eletrodo produzem espectros intensos de linhas estreitas, com pouca auto-absorção. A EDL é geralmente construída com um bulbo de quartzo ou vidro, dependendo da região espectral desejada, que tem cerca de 3 a 5 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro. O elemento, ou um sal do elemento de interesse é colocado no interior do bulbo, junto com um gás inerte à baixa pressão. Quando a lâmpada é colocada em um campo de rádio frequência, ocorre a excitação do metal. A energia vaporiza ou excita o átomo dentro do bulbo e causa a emissão do espectro característico do elemento.

As lâmpadas de descarga sem eletrodo (EDL) são, tipicamente, muito mais intensas que as respectivas lâmpadas de cátodo oco (HCL), e podem ser de várias ordens de grandeza maior do que as lâmpadas usuais de cátodo oco. Esse fato não leva a um aumento proporcional da sensibilidade, mas a razão sinal/ruído pode ser melhorada, levando a uma maior precisão e

melhor limite de detecção. As EDL são de grande vantagem para o trabalho abaixo de 200 nm que é o caso do elemento arsênio, cujo comprimento de onda é de 193,7 nm. Nesta faixa, são maiores as perdas de intensidade da fonte de radiação pela absorção do ar, chama e ótica do aparelho. Além disso, as EDL possuem um nível mais baixo de detecção e o tempo de meia vida maior, para um mesmo elemento, comparados com as lâmpadas de cátodo oco. As EDL são usadas para uma ampla variedade de elementos, como antimônio, arsênio, bismuto, cádmio, germânio, chumbo, mercúrio, fósforo, potássio, rubídio, selênio, estanho e zinco.

No processo de absorção atômica a fonte de luz emite um comprimento de onda específico que é absorvido pelos átomos da amostra no estado fundamental. Essa absorção é proporcional à concentração dos átomos livres, desse elemento, presentes no caminho ótico, obedecendo a lei de Lambert-Beer. O comprimento de onda é, então, isolado pelo monocromador que impede que outras linhas, que não a de interesse, alcance o detector. Do monocromador, a linha isolada vai direto para o detector que serve de “olhos” do instrumento. Este é, normalmente, um tubo fotomultiplicador, o qual produz uma corrente elétrica dependente da intensidade da luz. A corrente elétrica, no fotomultiplicador, é amplificada e processada pelo instrumento eletrônico. Este produz um sinal que é a medida da luz que ocorre na célula onde se encontra a amostra. Este sinal é, então, processado produzindo uma leitura que vai ser convertida, pelo instrumento, em unidades de concentração a serem estudadas (Beaty, 1993).

Os principais componentes envolvidos no processo de Absorção atômica estão representados na Figura 2.

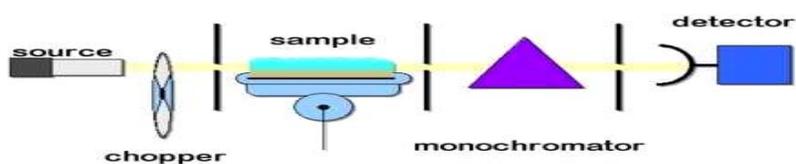


Figura 2- Principais componentes do sistema de atomização são: Fonte, sistema de modulação (chopper), sistema de atomização (célula de absorção que pode ser chama, forno de grafite ou geração de hidreto), monocromador, e detector.

3.3 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE (GF AAS)

Na técnica de GF AAS, a célula de absorção, agora um tubo de grafite, tem como função converter a amostra em átomos no eixo ótico do sistema de Absorção Atômico. Para isso deve-se estudar um programa de temperaturas para três etapas distintas: a secagem, em torno do ponto de ebulição do solvente; a pirólise, que é usada para destruir a matriz sem perder o elemento a ser determinado e que, portanto, depende da matriz e do elemento; e a atomização.

Além disso, para se obter uma boa análise usando o forno de grafite, deve-se obedecer as condições STPF (Stabilized Temperature Platform Furnace) que consistem em:

- usar uma plataforma de L'vov onde se consegue um ambiente isotérmico, diminuindo as chances de recombinação do analito;
- alta velocidade de aquecimento na etapa de atomização;
- interrupção do gás interno durante a atomização;
- absorvância integrada onde a leitura é realizada por área sendo proporcional ao número de átomos no campo ótico;
- uso de modificadores químicos cujo objetivo é atingir temperaturas mais elevadas na etapa de pirólise sem que ocorra perda do analito, diminuindo, assim, as chances de interferências na fase de atomização;
- aquecimento transversal.

Obedecendo estas condições, a técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite apresenta vantagens em relação à técnica de chama nos seguintes aspectos:

- alta sensibilidade (devido a eficiência da amostragem);
- uso de uma pequena quantidade de amostra;
- possibilidade de analisar amostras sólidas diretamente, sem solubilização prévia;

Embora, esta técnica seja bastante confiável, ela sofre interferências que são classificadas em:

- **Interferências Espectrais** - ocorrem quando a linha analítica emitida pela fonte é absorvida por outra espécie que não o analito ou quando uma radiação, que não aquela emitida pela fonte primária, alcança o monocromador e não pode ser compensada. Como

exemplos deste tipo de interferência, temos a ocorrência da sobreposição de linhas atômicas e o espalhamento por partículas. Para contornar estes problemas usa-se um programa adequado de temperaturas e um corretor de fundo que pode ser corretor contínuo (D_2) ou corretor de fundo baseado no efeito Zeeman.

- **Interferências Não Espectrais** – ocorrem quando há alteração no número de átomos capazes de absorver, causadas pela composição, muitas vezes, desconhecidas da amostra. Para contornar esta interferência aplica-se a técnica de adição padrão que consiste em deixar padrões e amostras no mesmo ambiente químico (Welz, 1999).

Mesmo apresentando interferências, como as que foram listadas acima, mas que podem, facilmente, serem corrigidas, a técnica de Absorção Atômica com Forno de Grafite foi a escolhida para a detecção de Arsênio em amostras de água e alimentos.

4. ESPECIAÇÃO DO ARSÊNIO

O conhecimento da especiação é datado de 1954, quando Goldberg introduziu o conceito de especiação para melhorar o entendimento do ciclo bioquímico de traços de elementos em água (Gilbert, 1996). Florence, em 1982, definiu o termo especiação como a determinação individual das formas físico-químicas de um elemento que juntas forma sua concentração total na amostra. Schroed (1989) distingue a especiação física que, envolve diferenciação das propriedades físicas do metal, e especiação química que implica diferenciar entre as várias formas químicas. De acordo com Lung (1990), a análise por especiação envolve o uso de métodos analíticos que podem fornecer informações sobre as formas físico-químicas do elemento (Jain, 2000).

É fundamental, na especiação, determinar, quantitativamente, cada uma das formas químicas do elemento, independentemente e sem interferência das demais. No entanto, a quantificação de alguns metais, no meio ambiente, é um trabalho difícil, uma vez que a concentração, de algumas espécies, esta abaixo dos limites de detecção das técnicas analíticas disponíveis.

O método ideal para especiação, será aquele que fornecer a informação desejada, sem alterar a identidade da amostra original. Pela ausência de tal método, a especiação tem sido realizada pela combinação de técnicas analíticas e metodológicas, incluindo separação cromatográfica, espectroscopia e processos eletroquímicos (Dedna, 1995).

Foram estudadas duas metodologias para especiação do arsênio: uma baseada na geração de hidretos e outra baseada na separação por troca iônica.

A metodologia baseada na Geração de Hidretos de arsênio permite, através das diferenças de reatividades dos compostos de arsênio com os agentes redutores para formar seus respectivos hidretos, a quantificação dessas espécies individualmente. Assim, através das diferenças de reatividade e sensibilidade das espécies As(III), As(V), MMA e DMA, pode-se identificar tais espécies (Lopez, 1992). A literatura reporta vários exemplos de especiação de arsênio, utilizando esta metodologia, com excelentes resultados (Anderson, 1986).

A outra metodologia baseia-se na separação das diferentes formas químicas do arsênio através de uma coluna de vidro preenchida com uma resina de troca iônica, sendo que o elemento é detectado, em cada fração eluída, através da Espectrometria de Absorção Atômica (Azcue, 1993; Smichowski, 2002). O uso de mini-coluna preenchida com uma resina de trocas iônicas fornece um método simples, efetivo e seletivo para a especiação que tem, como vantagem maior, a facilidade de poder ser implementado em análises de rotina.

Assim, pelas razões citadas anteriormente, o presente estudo realiza a separação das espécies As(III) e As(V), nas amostras de interesse, usando a mini coluna de vidro (Figura 3) preenchida com resina aniônica o que permite a permuta de ânions. A resina é formada por poliestireno com divinilbenzeno o que a torna insolúvel e permite a fixação de grupos funcionais como ácidos e bases (Figura 4). A detecção e quantificação são feitas através da Espectroscopia de Absorção atômica com Forno de Grafite. No entanto, deve-se observar que a análise não será “on line” (Figura 5).



Figura 3 – Coluna pra separação das espécies As(III) e As(V)

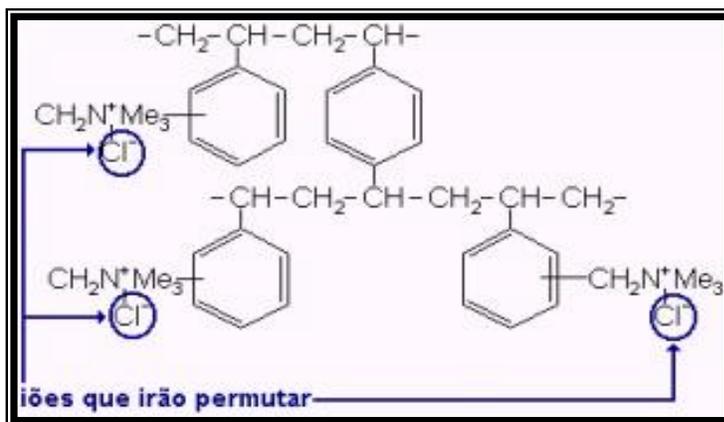


Figura 4 – Estrutura da resina Dowex 1-X8, forma Cl⁻ da Merck

Com resina de troca iônica, a separação das diferentes espécies de As é possível porque as constantes de dissociação do ácido arsenioso ($pK_{a1} = 9,2$; $pK_{a2} = 12,1$; $pK_{a3} = 13,4$) e do ácido arsênico ($pK_{a1} = 2,2$; $pK_{a2} = 6,9$; $pK_{a3} = 11,5$) são diferentes. Num pH que varia de 3 a 7, o ácido arsenioso está presente na forma de As(OH)₃ e não se dissocia. Por esta razão, quando se usa uma resina aniônica, o As(III) não fica retido. Já, ao contrário, o As(V) que está presente na

forma de H_2AsO_4^- , fica retido na resina ocorrendo, assim, a separação das duas espécies. Esta técnica é dependente do pH.

Para alcançar boas condições de separação, os parâmetros físicos e químicos que afetam a retenção/eluição das espécies de arsênio foram cuidadosamente estudados. O pH, o fluxo da amostra e do eluente e o volume dos mesmos foram determinados de forma a se conseguir um método bastante seletivo para as espécies em estudo (Smichowski, 2002).



Figura 5 – Esquema de funcionamento da técnica de especiação

5. PROCEDIMENTOS PARA ANÁLISE

5.1 AMOSTRAGEM

Neste trabalho, foram analisados os seguintes produtos:

1. Água;
2. Alimentos da cesta básica dos brasileiros;
3. Vinagre;
4. Suco de frutas;

Foram analisadas amostras de água de diversas naturezas: água subterrânea, água potável distribuída, águas minerais e água purificada para hemodiálise.

As amostras de água subterrânea foram coletadas em duplicata pela Vigilância Sanitária do município de Cruz Alta/RS em poços do tipo cacimba e poços comunitários utilizando frascos de polietileno de 1 litro tendo, como conservante, ácido nítrico. As amostras foram enviadas ao INCQS via Sedex, sendo que, junto com estas, foi enviado um branco (solução aquosa 0,2% de HNO_3). As amostras de água de abastecimento foram adquiridas de diferentes bairros da cidade do Rio de Janeiro, coletadas pelos moradores e encaminhadas ao INCQS pessoalmente. As amostras de água mineral foram compradas, juntamente com os alimentos, em um supermercado da zona oeste do Rio de Janeiro.

As amostras usadas no tratamento de terapia renal substitutiva (hemodiálise) foram coletadas em hemocentros da cidade do Rio de Janeiro pela Secretária Estadual de Saúde e encaminhadas ao INCQS para análise. Amostras de diferentes pontos foram coletadas: entrada da rede, osmose e pós-osmose reversa.

Para a escolha dos produtos alimentícios a serem estudados, considerou-se a contribuição, de cada alimento da cesta básica, para a ingestão diária de arsênio. Esta contribuição foi calculada a partir dos limites máximos de arsênio permitidos pela legislação vigente e de dados sobre consumo alimentar feito pelo IBGE (Anexo 1, Tabela 32). Foram escolhidos alimentos com um valor de contribuição teórica (%PTWI), para a ingestão de arsênio, superior a 50% (Tabela 3). Os produtos selecionados foram: açúcar, arroz, feijão e tomate. Produtos de origem animal não fizeram parte do presente estudo. Também foi escolhido, para estudo, o café levando-se em conta o uso de agrotóxicos arsenicais na agricultura.

Tabela 3 – Contribuição dos alimentos da cesta básica para a ingestão diária de arsênio apresentada como a porcentagem do valor provisional da ingestão semanal tolerável recomendado pelo JECFA / OMS.

Produto	Consumo mensal (kg/mensal)	Consumo diário (kg/dia)	LM (mgkg⁻¹)	IDTM (mg/dia)	Ingestão semanal (mg/semana)	% do PTWI
Arroz	3	0,10	1	0,1	0,7	77%
Feijão	4,5	0,15	1	0,15	1,05	116%
Tomate	9	0,30	1	0,30	2,1	233%
Açúcar	3	0,10	1	0,10	0,7	77%
Café	0,6	0,02	1	0,02	0,14	15%
Farinha	1,5	0,05	1	0,05	0,35	38%
Leite	7,51	0,250	0,1	0,0250	0,175	19%
Óleo	0,9	0,03	0,1	0,003	0,021	2,3%
Manteiga	0,75	0,025	0,1	0,0025	0,0175	2%
pão	6	0,2	1	0,2	1,4	155%
carne	6	0,2	1	0,2	1,4	155%
Total		1,425		1,1505	8,0535	889%

Diferentes marcas dos produtos escolhidos foram compradas em um supermercado na zona oeste do Rio de Janeiro (Barra da Tijuca). As marcas foram selecionadas entre as mais vendidas do supermercado do município do Rio de Janeiro, segundo as informações fornecida pelo próprio supermercado. A amostra de tomate foi adquirida junto com os demais alimentos. Foram analisados cinco tipos de produtos, num total de 22 amostras, todas em triplicatas.

O vinagre e os sucos cítricos foram escolhidos devido aos teores elevados de arsênio encontrados, em diversos estudos (Burlo, 1999) e, também pelo uso de agrotóxicos organoarsenicais nas culturas de frutas cítricas. Eles foram adquiridos junto com os demais alimentos num supermercado da zona oeste do Rio de Janeiro.

5.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de água e sucos cítricos não sofreram nenhum tipo de tratamento tanto para as determinações do As total quanto para suas espécies As(III) e As(V).

Para a análise dos alimentos procedeu-se conforme descrito no POP n° 653120016 - INCQS “Determinação de Arsênio em alimentos por Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos”. Foram pesados, exatamente, 2 a 5 g da amostra, em cadinho de porcelana em triplicata e adicionados 5 mL de HNO₃ p.a e 5 mL de Mg(NO₃)₂.6H₂O. Após, as amostras foram colocadas na chapa de aquecimento para secar e levadas para a mufla onde a temperatura foi aumentada, lentamente, de 50°C em 50°C até 450°C e calcinadas por três horas. Deixou-se, então, esfriar as cinzas e adicionou-se 5 mL de HNO₃ (10%) tendo-se, então, transferido as amostras, para um balão volumétrico de 25 mL e completado o volume com água deionizada.

5.3 LIMPEZA DA VIDRARIA

Toda vidraria e todo material utilizado, durante as análises, foram descontaminadas por imersão durante 24 horas em ácido nítrico a 10%; posteriormente, o material foi enxaguado, exaustivamente, com água deionizada. Após o processo de lavagem, o material foi deixado secar a temperatura ambiente.

5.4 MATERIAIS E REAGENTES

5.4.1 VIDRARIAS E OUTROS MATERIAIS UTILIZADOS NAS ANÁLISES:

- Cadinho – 50ml;
- Balões volumétricos: 25/100 mL;
- Pipetas volumétricas
- Kit Coluna Omnifit – 5 cm X1mn i.d

5.4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS:

- Lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL)
- Balança Analítica marca Mettler, modelo Ag 285 com leitura em 5 casas decimais.
- Mufla com controle de temperatura.
- Chapa de aquecimento
- Bomba Peristáltica – Perkin Elmer – Minipuls 2 LSA^o LR 44845 (115 Volts; 60 hertz; 0,5 Amp).
- Espectrômetro de absorção Atômica com Forno de Grafite – SIMAA 6000 – Perkin Elmer com amostrador automático AS-72, com aquecimento transversal e corretor de fundo tipo Zeeman. A Tabela 4 mostra as condições operacionais para determinação de As total e as Tabelas 5 e 6 mostram os programas de temperatura do forno de grafite para água e alimento.

Tabela 4 - Parâmetros Instrumentais para determinação de Arsênio total.

Comprimento de Onda (λ)	193,7 nm
Lâmpada / Corrente	EDL / 380 mA
Modificador Químico	0,003 mg $Mg(NO_3)_2$ (água) 0,005 mg de $Pd(NO_3)_2$ (alimento)
Volume de amostra	20 μ L
Volume de modificador químico	5 μ L
Leitura de Absorvância	Em Área

Tabela 5 - Programa de Temperatura do Forno de Grafite – Água

Fazes	Temperatura.(°C)	Rampa (s)	Tempo (s)	Fluxo Interno (mL min ⁻¹)	Gás	Leitura
1	110	1	30	250	N	
2	130	15	30	250	N	
3	700	10	20	250	N	
4	2300	0	3	250	-	*
5	2450	1	3	250	N	

Tabela 6 - Programa de Temperatura do Forno de Grafite - Alimento

Fazes	Temperatura.(°C)	Rampa (s)	Tempo (s)	Fluxo Interno (mL min ⁻¹)	Gás	Leitura
1	110	1	30	250	N	
2	130	15	30	250	N	
3	1000	10	20	250	N	
4	2300	0	3	250	-	*
5	2450	1	3	250	N	

5.4.3 REAGENTES:

Foi usada água ultrapura, deionizada em sistema de purificação Milli-Q (Millipore), para preparar todas as amostras, soluções padrões e soluções dos reagentes.

Todos os reagentes foram utilizados dentro dos respectivos prazos de validade e foram fornecidos pela Merck e Vetec e são os seguintes:

- Ácido Nítrico 65% suprapur[®] Merck - ref. 1004410250;
- Ácido Clorídrico 32% suprapur[®] Merck - ref. 100319100;
- Ácido Acético Glacial– 100% Merck - ref. 50048;
- Hidróxido de Sódio micropérolas - ref. 1137 Vetec Química fina LTDA;
- Nitrato de Magnésio Hexahidratado p.a Merck - ref. A 116353;

- Nitrato de Paládio suprapur[®] - Merck - modificador - ref 1072890050;
- Nitrato de Magnésio suprapur[®] - Merck - modificador - ref. 1058130050;
- Resina Dowex 1-X8 Ion Exchanger - Merck - ref. 1052420250;
- Padrão de As₂O₃ Titrisol - Fixanal Riedel-de Haen Ak Tengesellschaft Seelze - Hannover;
- Padrão As(V) H₃AsO₄ – Titrisol - Merck - ref. 98211998;
- Padrões NISTs - Rice flour - 1568^a - As = 0,29 ± 0,03 mgkg⁻¹;
- Padrões NISTs - Tomato leaves - 1573^a - As = 0,112 ± 0,004 mgkg⁻¹;
- Padrões NISTs - Trace element in water - 16438^d – As = 56,02 ± 0,73 µgL⁻¹.

5.5 PREPARO DAS SOLUÇÕES

5.5.1 REAGENTES

- Solução adjuvante de nitrato de magnésio hexahidratado (concentração de Mg de 30000 mgL⁻¹) - obtida, pesando-se 31,7467 g de Mg(NO₃)₂.6H₂O e dissolvido em 100 mL de água deionizada e transferida para um balão de 1000 mL, tendo-se completado o volume com água deionizada .
- Solução de ácido clorídrico de 2 molar – A partir de uma solução concentrada de HCl diluiu-se 170 ml desta em um volume final de 1000mL.
- Solução de ácido clorídrico 1molar – Retirou-se um volume de 250 ml da solução de 2 molar de HCl e completou-se o volume com água deionizada até 500 mL.
- Solução de ácido nítrico 10% - obtida, retirando-se 11 mL de uma solução de HNO₃ concentrado e transferindo-se para um balão volumétrico de 100 mL o volume foi completado com água deionizada.
- Solução de hidróxido de sódio 1molar- obtida, pesando-se cerca de 4 g de NaOH e dissolvido em mais ou menos 10 mL de água deionizada e transferida para um balão de 100mL, tendo-se completado o volume com água deionizada .
- Solução de ácido acético 4 molar - retirando-se 23 mL de uma solução de CH₃COOH concentrado e transferindo-se para um balão volumétrico de 100 mL o volume foi completado com água deionizada

5.5.2 SOLUÇÕES PADRÃO

5.5.2.1 SOLUÇÕES ESTOQUE:

- Arsênio três (As(III)) - Com uma ampola contendo 1,3203 g de As_2O_3 mais 2 g de NaOH foi transferindo-se, quantitativamente, a solução da ampola para o interior de um balão volumétrico de 1000 mL completando-se, então, o volume com água deionizada. A solução, assim preparada, contém 1000 mgL^{-1} do elemento de interesse e será denominada solução estoque.
- Arsênio cinco (As(V)) - Solução estoque de As(V) foi obtida através da compra de um padrão Titrisol da Merck contendo 1000 mgL^{-1} de H_2AsO_4 em HNO_3 de $0,5 \text{ molL}^{-1}$.

5.5.2.2 SOLUÇÃO INTERMEDIÁRIA:

A partir da solução estoque, preparou-se por diluição, a solução intermediária de 1 mgL^{-1} .

5.5.2.3 SOLUÇÕES PARA CONFECÇÃO DA CURVA ANALÍTICA

Com a solução intermediária de 1 mgL^{-1} foram preparados, através de diluições, os padrões de arsênio para o estudo da linearidade do equipamento. Foram selecionados cinco padrões de calibração para o equipamento, sendo estes, utilizados para a confecção da curva analítica durante todo o procedimento.

5.6 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

5.6.1 DETERMINAÇÃO DO ARSÊNIO TOTAL

A Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS) foi a técnica escolhida, para este trabalho, por apresentar baixos limites de detecção e, também, pela disponibilidade do instrumental no Laboratório de Contaminantes Inorgânicos do DQ/INCQS-FIOCRUZ. Além disso, esta técnica, apresenta boa seletividade já que as condições operacionais são específicas para o elemento em estudo.

A validação é a comprovação, através do fornecimento de evidências objetivas, de que os requisitos, para uma aplicação ou uso específico pretendido, foram atendidos (INMETRO, 2002; ISO/CD – 13812 (a ser publicada)).

No planejamento e execução da validação, as características de desempenho do método, ou seja, os parâmetros da validação, devem estar bem definidos (Souza, 2001).

A validação da metodologia usada neste trabalho compreendeu oito etapas:

- **Especificidade e Seletividade do método** – estão relacionadas ao evento da detecção. Um método que produz resposta para apenas um analito é chamado de específico e um método que produz resposta para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros, é chamado seletivo.
- **Faixa de trabalho do método** – definida conforme a referência do Instituto Fraunhofer de Tecnologia de Alimentos e Embalagens, indicada na equação 5.1, onde VMP é igual ao limite máximo de referência e FT a faixa de trabalho.

$$0,1 \text{ VMP} < \text{FT} < 2 \text{ VMP} \quad \text{equação 5.1}$$

- **Estudo da linearidade do método** – o método se diz linear quando produz resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito, em uma dada faixa de concentração. A equação da reta que deve relacionar as duas variáveis está indicada na equação 5.2:

$$Y = bx + a \quad \text{equação 5.2}$$

Onde:

Y = valor da variável dependente, no caso, absorvância;

x = valor da variável independente, no caso, concentração;

b = declividade da reta ou coeficiente angular;

a = representa o intercepto da reta ou coeficiente linear.

De acordo com o teste de certificação da ISO/CD 13812 é possível confirmar a linearidade através da equação 5.3 sendo que o resultado obtido deverá ser maior ou igual a 0,7.

$$L = (A_{\text{int}10} - A_{\text{int}9}) / (A_{\text{int}2} - A_{\text{int}1}) \quad \text{equação 5.3}$$

Onde:

L = Linearidade;

$A_{\text{int}10}$ = Absorvância integrada do ponto de concentração igual a 100 μgL^{-1} ;

$A_{\text{int}9}$ = Absorvância integrada do ponto de concentração igual a 90 μgL^{-1} ;

$A_{\text{int}2}$ = Absorvância integrada do ponto de concentração igual a 3 μgL^{-1} ;

$A_{\text{int}1}$ = Absorvância integrada do ponto de concentração igual a 1 μgL^{-1} .

Além deste foi aplicado o teste de Cochran (equação 5.4) e assim verificar se a curva é homo ou heterocedástica. O valor obtido é comparado com o valor de referência dado pelo Anexo 2 Tabela 33.

$$C_{\text{calc.}} = \frac{S^2_{\text{maior}}}{\Sigma S^2} \quad \text{equação 5.4}$$

Onde:

$C_{\text{Calc.}}$ = Valor Cochran calculado;

S^2_{maior} = Variância maior;

ΣS^2 = Somatório de n variâncias.

- **Estudo da sensibilidade** – é um parâmetro que demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito. Depende da natureza do analito e da técnica de quantificação utilizada. Para este estudo é necessário avaliar a massa característica, estudar as concentrações do modificador e determinar a temperatura de pirólise e atomização;
- **Estudo dos limites de detecção e de quantificação** – limite de detecção é considerado a menor concentração do analito que pode ser detectado, enquanto que o limite de quantificação corresponde a mais baixa concentração que pode ser quantificada com exatidão e precisão aceitáveis. Estes limites foram estabelecidos através da replicata da amostra branco (n = leituras) e da tangente da curva de calibração, sendo utilizados os critérios de 3σ e 10σ conforme as equações 5.5 e 5.6. Conforme o instituto United Kingdom Accreditation Service (UKAS), para confirmar os valores de limites de quantificação obtidos a partir da equação 5.6 deve-se preparar padrões cuja concentração seja correspondente ao ponto de menor concentração da curva de calibração.

$$LD = \frac{3\sigma\bar{x}}{\operatorname{tg}\alpha} \quad \text{equação 5.5}$$

$$LQ = \frac{10\sigma\bar{x}}{\operatorname{tg}\alpha} \quad \text{equação 5.6}$$

Onde:

LD = limite de detecção;

LQ = limite de quantificação;

σ = desvio padrão das leituras do branco;

\bar{x} = média das leituras do branco;

$\operatorname{tg} \alpha$ = inclinação da curva de calibração.

- **Estudo da Exatidão do método** – é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como, convencionalmente, verdadeiro. Os processos utilizados para avaliar a exatidão do método foram, entre outros, uso de material de referência e realização de ensaios de recuperação. Os materiais de referência, certificadas pelo National of Standards and Technology (NIST), foram comparados, estatisticamente, com os valores encontrados nas amostras através do teste de hipótese (teste t), de acordo com a equação 5.7.

$$t = \frac{(u - \bar{x})\sqrt{n}}{\sigma} \quad \text{equação 5.7}$$

Onde:

u = valor verdadeiro;

\bar{x} = média;

n = número de determinações;

σ = desvio padrão.

- **Estudo da precisão do método** – é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. É, normalmente, determinada para circunstâncias específicas de medições e a forma mais comum de expressá-la é por meio da repetitividade e reprodutibilidade, sendo, usualmente, expressa pelo desvio padrão relativo, equação 5.8. Uma outra fórmula de avaliar seria através da precisão intermediária (equação 5.9) que se refere à precisão avaliada sobre uma mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando-se o mesmo método, no mesmo laboratório ou em laboratórios diferentes, mas definindo-se, exatamente, quais as condições a variar.

$$\% RSD = \frac{\sigma}{\bar{X}} \cdot 100 \quad \text{equação 5.8}$$

Onde:

%RSD = Desvio Padrão Relativo %;

σ = Desvio Padrão dos resultados;

\bar{X} = Média dos resultados.

$$Pi = \sqrt{\frac{1}{t(n-1)} \sum \sum (y - \bar{y})^2} \quad \text{equação 5.9}$$

Onde:

Pi= desvio padrão de precisão intermediária;

t = total de amostras estudadas;

n = número de repetições por amostra;

Y = valor do resultado ;

\bar{Y} = média aritmética dos resultados .

- **Robustez** – é a capacidade de um método de não ser afetado por uma pequena e deliberada modificação em seus parâmetros. Um método diz-se robusto se for, praticamente, insensível a pequenas variações. Para o estudo da robustez foram estudadas diferentes concentrações de ácido nítrico. Para avaliação do resultado utilizou-se o teste t (equação 5.10) e teste de Snedecor (equação 5.11);

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{equação 5.10}$$

Onde:

t = teste de hipótese para dois valores calculados;

\bar{X}_1 = média para as amostras 1;

\bar{X}_2 = média para as amostras 2;

s = desvio padrão;

n_1 = número de replicatas 1;

n_2 = número de replicatas 2.

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad \text{equação 5.11}$$

Onde:

F = teste de Snedecor;

S1² = maior variância;

S2² = menor variância.

5.6.2 ESTUDO DA METODOLOGIA PARA ESPECIAÇÃO DO As (III) E As (V)

Conforme já citado no Capítulo 4, a metodologia escolhida para a especiação do As(III) e As(V) utiliza uma mini coluna preenchida com uma resina de troca iônica, sendo baseada no trabalho de Smichowski, 2002.

A técnica utilizada consiste em fazer passar uma solução contendo As(III) e As(V) através da coluna, numa vazão de 1 mLmin⁻¹, usando uma bomba peristáltica. O As(V) fica retido na coluna, enquanto o As(III) é coletado em um frasco. Uma solução de 1 molL⁻¹ de HCl é usada para eluir o As(V) da coluna. A solução eluída é, então, coletada em um outro frasco. Após cada análise, a coluna é lavada com alguns mililitros de HCl de 2 molL⁻¹ e, mais ou menos, 5 mL de água. O arsênio coletado é determinado em duas frações por GF AAS.

Para que a separação das espécies (III) e (V) ocorresse de forma eficiente foram estudadas as condições ideais de trabalho em relação aos seguintes aspectos:

- Influência do pH;
- Influência da vazão com que a amostra passa através da coluna;
- Influência do volume e concentração de HCl;
- Influência do volume da amostra.

5.7 CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE DOS RESULTADOS

O monitoramento interno da qualidade de todo o processo analítico foi feito com a construção de cartas controle. O controle interno permite avaliar, por exemplo, se há reagentes contaminados, se o gás carreador está impuro, perdas durante o tratamento da amostra ou se houve alguma alteração nas condições instrumentais durante um longo tempo de uso (Funk, 1995).

Cartas de controle foram desenvolvidas por Shewhart em 1931. São uma extensão de uma carta de distribuição normal mostrada na Figura 6. Consiste em uma linha central que assinala a concentração já conhecida ou a média de várias determinações do analito da amostra (\bar{X}). O desvio padrão obtido, desta forma, é usado para cálculos das linhas de controle apresentadas em dois pares de limites: uma linha de controle em $\bar{X} \pm 2\sigma$ e uma linha de atenção em $\bar{X} \pm 3\sigma$.

Foi construída uma carta controle para água e alimento a fim de monitorar todo o procedimento analítico durante todo o período deste estudo. Para o controle das determinações de arsênio em água foi escolhido um padrão de $10 \mu\text{gL}^{-1}$. Infelizmente não foi possível o uso de um material certificado de água (NIST), pois este não estava disponível em quantidade suficiente. Para as determinações em alimento utilizou-se um padrão de $10 \mu\text{gL}^{-1}$ e o material de referência Rice Flower NIST que foram tratadas conforme as amostras. Os padrões foram analisados em dias diferentes até completar um total de vinte resultados. Com os valores, deste, foram calculados a média e o desvio padrão para a construção da carta controle para água e alimentos.

O valor da média calculado foi usado para representar a linha central do gráfico e, através do desvio padrão, foram calculados os limites de controle e os limites de atenção, utilizando as equações 5.12 a 5.15. O gráfico da carta controle é apresentado na Figura 6.

$$\text{LSC} = \bar{X} + 3\sigma \quad \text{equação 5.12}$$

$$\text{LIC} = \bar{X} - 3\sigma \quad \text{equação 5.13}$$

$$\text{LSA} = \bar{X} + 2\sigma \quad \text{equação 5.14}$$

$$\text{LIA} = \bar{X} - 2\sigma \quad \text{equação 5.15}$$

Onde:

LSC = limite superior de controle;

LIC = limite inferior de controle;

LSA = limite superior de atenção;

LIA = limite inferior de atenção

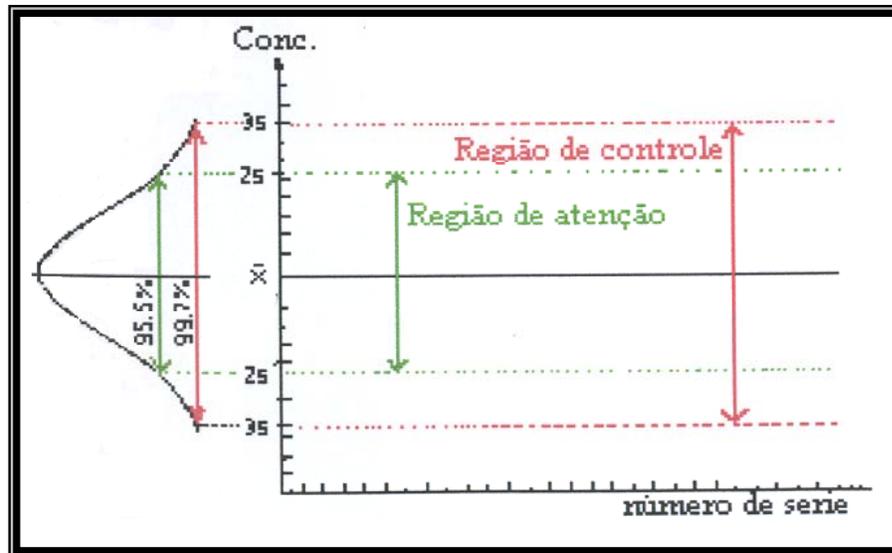


Figura 6 – Carta controle – Linha preta – representa a média; **Linha vermelha** representa o limite superior e inferior de atenção ($\pm 3\sigma$); **Linha verde** – representa o limite superior e inferior de controle ($\pm 2\sigma$).

5.8 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

A representação dos resultados encontrados foi baseada no POP nº 651120035 – INCQS “Avaliação da Precisão e Expressão de análises”. Para cada amostra analisada, foi calculado o intervalo de confiança através da equação 5.17 que estabelece a região provável que o valor verdadeiro se encontre.

Primeiramente foi calculado o Erro Sobre a Média (ESM) através da equação 5.16 e o valor encontrado multiplicado por t de Student para 0,95 ($\alpha= 0,05$) conforme convenção em Química Analítica.

$$ESM = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{equação 5.16}$$

Onde:

ESM= Erro sobre a média;

s = desvio padrão;

\sqrt{n} = numero de determinações;

$$I.C. = t . ESM \quad \text{equação 5.17}$$

Onde :

I.C.= intervalo de confiança;

t = t Student;

ESM = Erro sobre a média;

Após os cálculos, o resultado final deve ser expresso como a média aritmética dos resultados obtidos pelas várias determinações executada na mesma amostra, mais ou menos o intervalo de confiança.

5.9 AVALIAÇÃO DO RISCO PROVENIENTE DA INGESTÃO DE ARSÊNIO PRESENTE NOS ALIMENTOS ESTUDADOS.

O cálculo da exposição crônica foi baseado no procedimento recomendado pela Organização Mundial da Saúde e descrito para resíduos de pesticidas em Caldas, 2000.

O estudo de avaliação de risco crônico da ingestão de um contaminante inorgânico é o processo no qual a exposição humana a um dado elemento é comparada a um parâmetro toxicologicamente seguro. No caso dos contaminantes inorgânicos, estes parâmetros são os valores provisionais da ingestão semanal tolerável – PTWI, que vêm sendo estudados pelo Comitê de Peritos sobre Aditivos e Contaminantes da Organização para Alimentação e Agricultura (FAO) da Organização Mundial de Saúde (OMS).

A metodologia se baseia no cálculo, para cada alimento, da Ingestão Diária Tolerável Máxima (IDTM) equação 5.18 que é definida como sendo o limite máximo permitido de arsênio (LM), em mgkg^{-1} , multiplicado pelo consumo (C), do respectivo alimento, em kg por dia. A caracterização do risco (%PTWI) equação 5.19 foi feita comparando-se o IDTM multiplicado por sete (uma semana) com o PTWI, em mgkg^{-1} , assumindo um peso corporal de 60kg.

$$\text{IDTM} = (\text{LM} \times \text{C}) \quad \text{equação 5.18}$$

$$\% \text{PTWI} = \frac{\text{IDTM} \times 7(\text{dias}) \times 100}{\text{PTWI} \times \text{peso corpóreo}} \quad \text{equação 5.19}$$

Os limites máximos permitidos de arsênio foram obtidos da legislação brasileira (Tabela 2), e o consumo de alimentos foram retirados da pesquisa sobre “Orçamento Familiar” realizada pelo IBGE em 1998-1999 (Anexo 1, Tabela 32). Os dados sobre o consumo alimentar, obtido do IBGE, foram divididos por 365 dias e expressos em kg por dia para o cálculo do IDTM.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO TOTAL EM ÁGUA

6.1.1 OTIMIZAÇÃO

Para se conseguir bons resultado é necessários ante de se realizar análise estudar o programa de temperatura do forno de grafite e a necessidade ou não do uso do modificador químico, se necessário estudar a sua concentração.

6.1.1.1- ESTUDO DO PRAGRAMA DE TEMPERATURA: CURVAS DE PIRÓLISE E ATOMIZAÇÃO.

Primeiramente estudamos a temperatura de pirólise através de uma curva. Esta foi construída variando-se as temperaturas. Iniciando em 300°C e aumentando, gradativamente, até 1300 °C, ver Figura 7. Temperatura escolhida 700°C. Posteriormente estudamos a temperatura de atomização, a qual ficou estabelecida em 2300°C, conforme Figura 8. Nesta temperatura, os átomos atomizam mais uniformemente, apresentando uma melhora no sinal da absorvância.

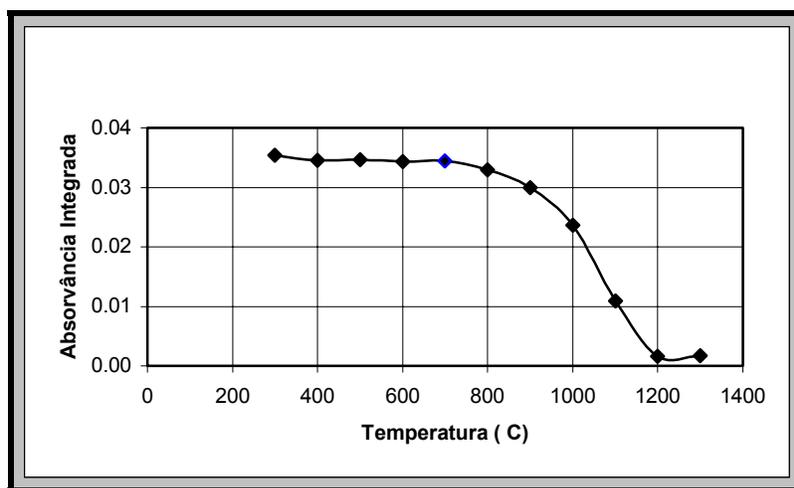


Figura 7 – Curva de pirólise para determinação de arsênio em água; com modificador 3 $\mu\text{g Mg(NO}_3)_2$; temperatura de atomização 2000°C ; volume de amostra de 20 μL e de modificador 5 μL e concentração de arsênio na amostra de 10 μgL^{-1} .

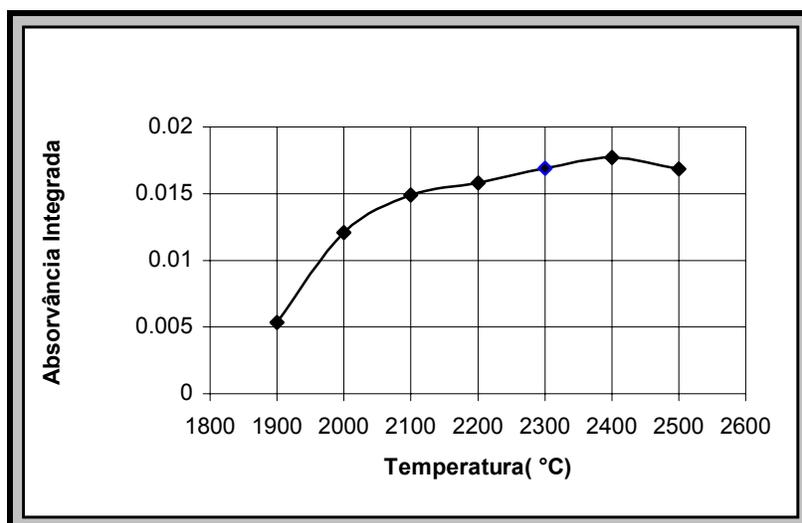


Figura 8 – Curva de atomização para determinação de arsênio em água; com modificador 3 $\mu\text{g Mg(NO}_3)_2$; temperatura de pirólise 700°C ; volume de amostra de 20 μL e de modificador 5 μL e concentração de arsênio na amostra de 10 μgL^{-1} .

6.1.1.2 ESTUDO DA ESCOLHA E CONCENTRAÇÃO DO MODIFICADOR

Os modificadores químicos são reagentes que permitem a redução da volatilidade do analito ou o aumento da volatilidade da matriz. Deste modo, aumenta-se a temperatura de pirólise para que os componentes da matriz se volatilizem durante esta etapa, minimizando o espalhamento da radiação e a formação de moléculas na etapa da atomização. O modificador químico pode ser misturado à amostra, tanto antes desta estar na plataforma, como depois. Entre os modificadores químicos convencionais, mais usados, temos a solução de nitrato de magnésio e nitrato de paládio. O modificador escolhido para análise de água foi o nitrato de magnésio, pois, além de ser mais barato, com ele, obtivemos uma maior sensibilidade, Figura 9.

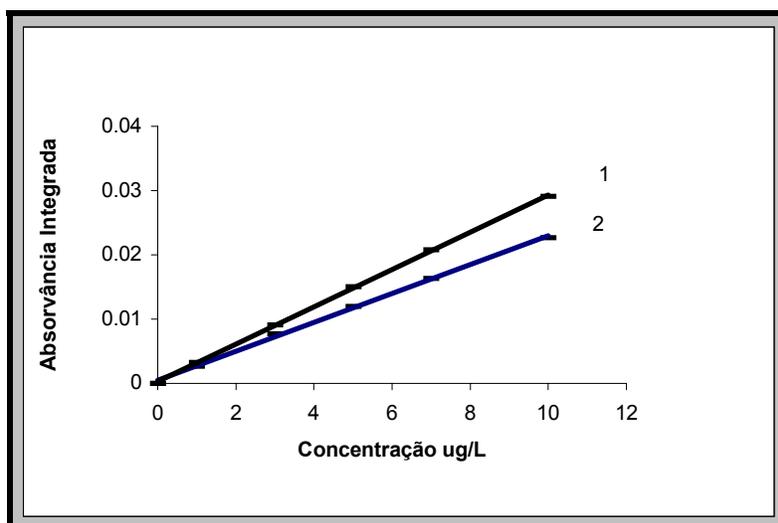


Figura 9 – Curvas de calibração para arsênio, feitas com diferentes modificadores: **Seqüência 1** - 3 µg de $Mg(NO_3)_2$ e **Seqüência 2** - 5 µg de $Pd(NO_3)_2$; volume de modificador adicionada 5µL e volume de amostra 20µL.

A partir dos resultados obtidos foram feitas duas curvas combinando as concentrações do modificador $Mg(NO_3)_2$ sob temperatura de pirólise de 700° C e de atomização de 2300° C e, assim, escolher a melhor concentração do modificador ver Figura 10. A concentração escolhida de modificador para montar a curva de calibração de arsênio para amostras de água foi de 3 µg obtida dentro do forno de grafite com um volume final de 25 µL (volume de 20 µL de amostra + 5µL de modificador).

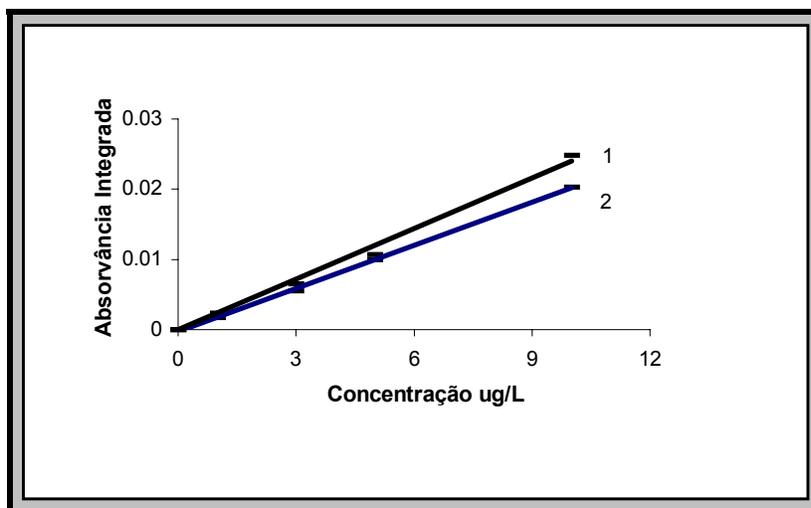


Figura 10 – Curvas de calibração para arsênio utilizando diferentes concentrações do modificador químico $Mg(NO_3)_2$: **Seqüência 1** – Concentração de 3µg de $Mg(NO_3)_2$ num volume final de 25 µL (5 µL de modificador + 20 µL de amostra); **Seqüência 2**- Concentração de 6 µg de $Mg(NO_3)_2$ num volume final de 25 µL (5 µL de modificador + 20 µL de amostra).

6.1.2 FAIXA DE TRABALHO

O limite de referência para a água (VMP) é de $0,01 \text{ mgL}^{-1}$, segundo a portaria nº 518 de 25 de março de 2004 da Vigilância Sanitária. Assim, a faixa de trabalho escolhida variou de $1 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$ até $10 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$ (equação 5.1).

6.1.3 LINEARIDADE

A fórmula matemática que expressa a linearidade entre a resposta do equipamento e a concentração do analito é dada pela equação 5.2. Para verificar a linearidade foi preparada uma solução intermediária de 1 mgL^{-1} de arsênio e, a partir desta solução, foram preparados 15 pontos de calibração com concentrações conhecidas. Para cada ponto foram obtidas duas leituras. Na Tabela 7 são apresentadas as concentrações para esses pontos (Figura 11).

Tabela 7: Concentrações utilizadas no Estudo da Linearidade em μgL^{-1} .

Pontos	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
$\mu\text{g L}^{-1}$	0	1	3	5	7	10	15	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Abs	0,0004	0,0047	0,0108	0,017	0,023	0,029	0,0438	0,056	0,079	0,111	0,14	0,162	0,19	0,22	0,25	0,277

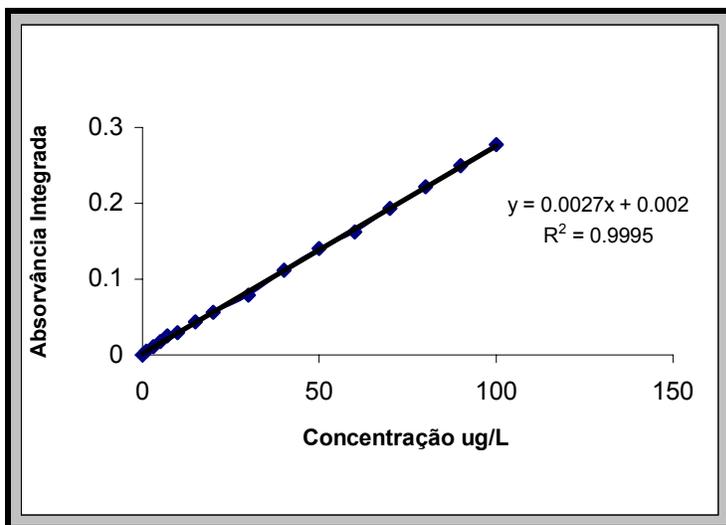


Figura 11 – Gráfico da linearidade do equipamento para determinação do arsênio total.

Aplicou-se, então, o modelo estatístico de regressão linear como segue:

$$Y_i = b x_i + a + e_i \quad \text{equação 6.1}$$

Onde:

Y_i = absorvância do ponto de calibração i ;

x_i = concentração do ponto de calibração i ;

a = parâmetro do modelo de regressão linear (coeficiente linear);

b = parâmetro do modelo de regressão linear (coeficiente angular);

e_i = erro aleatório causando por variações acidentais.

Através deste modelo foram obtidos os pontos que se ajustaram à fórmula 6.1, tendo-se, então, determinado a faixa de linearidade, levando-se em conta o método dos mínimos quadrados (INMETRO) e o teste de certificação da ISO/CD 13812. Este teste estabelece que a linearidade (L) deve ser maior ou igual 0,7, o que certifica o valor encontrado em nosso estudo igual a 1,6 (equação 5.3).

Após o estudo da linearidade, foram escolhidos os pontos (Tabela 8) para definir a curva analítica usada para quantificar o arsênio nas amostras de água. Para isso, analisaram-se, em triplicata, todos os pontos da curva analítica calculando-se, em seguida, as variâncias das respostas de cada um destes pontos. Para confirmar a linearidade foi aplicado o teste de Cochran (equação 5.4) e, assim, verificar se a curva era homo ou heterocedástica. O valor obtido foi comparado com os valores de referência dado pela Tabela 33 do Anexo 2. Estes pontos encontram-se dentro da faixa de trabalho e são homocedásticos, isto é, linear conforme mostrado na Figura 12. A medida de dispersão dos resultados, representada pelo coeficiente de correlação, R^2 , foi de 0,9997.

Tabela 8 – Concentrações utilizadas para formar a curva de calibração em μgL^{-1} .

Pontos	0	1	2	3	4	5
μgL^{-1}	0	1	3	5	7	10
Abs	0,0009	0,0048	0,0110	0,0176	0,0246	0,0331

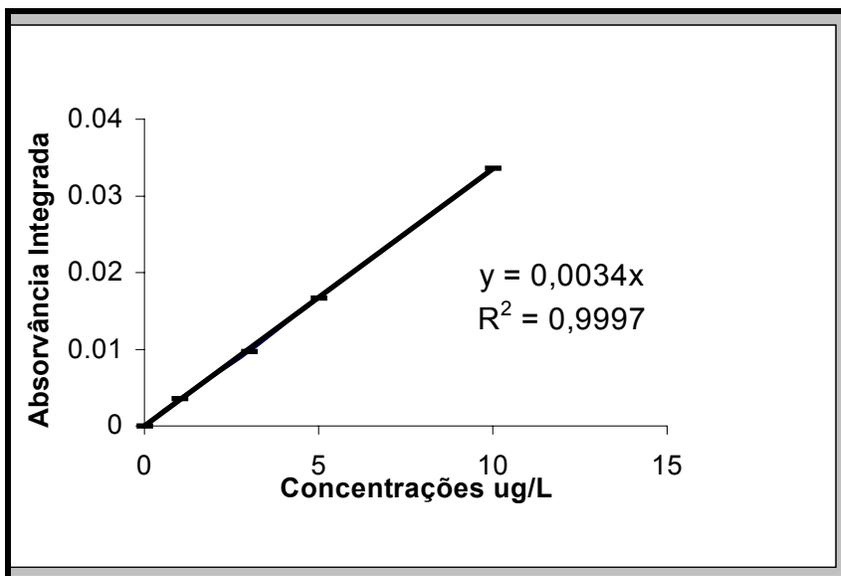


Figura 12– Curva de Calibração para determinação de arsênio total em água. $T_p = 700^\circ\text{C}$, $T_a = 2300^\circ\text{C}$

6.1.4 SENSIBILIDADE

A sensibilidade corresponde a tangente da curva de calibração, sensibilidade encontrada foi de $0,0034 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$, mas pode ser expressa, também, através da massa característica encontrada que foi de $26,4 \text{ pg}/0,0044 \text{ abs}$. Esta é a massa do elemento que produz 1% de absorção, ou seja, uma absorvância integrada igual a $0,0044 \text{ abs}$. Ela é determinada pela razão entre $0,0044$ e a inclinação da curva analítica (chamada de sensibilidade). Este valor encontra-se 17,5% abaixo do limite inferior que é de $32 \text{ pg}/0,0044 \text{ abs}$ dada pelo aparelho. Sendo assim, quanto menor a massa característica melhor é a sensibilidade do método.

6.1.5 LIMITE DE DETECÇÃO E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

Os limites de detecção e quantificação (Tabela 9) foram determinados usando as leituras da amostra branco (solução aquosa 0,2% de HNO_3 , num volume de $20 \mu\text{L}$ no forno de grafite) e aplicando as formulas 5.5 e 5.6 do Capítulo 5.

Tabela 9 – Limite de detecção e quantificação para arsênio em amostras de água.

Elemento	Modificador	$A_{int} \pm s$ 10 leituras do branco	LD (n=10) μgL^{-1}	LQ (n=10) μgL^{-1}
As	Mg(NO ₃) ₂	0,00063 ± 0,0004	0,1261	1,0443

A_{int} = Absorvância integrada; s = desvio padrão; LD= limite de detecção e LQ= limite de quantificação.

6.1.6 EXATIDÃO

Para este estudo foram utilizadas amostras de referência certificadas pelo National Institute of Standards and Technology - NIST. A exatidão foi avaliada comparando-se, estatisticamente, os valores obtidos para as amostras com os valores certificados através do teste de hipótese (teste t), de acordo com a equação 5.7. Se o valor obtido for menor que o valor Tabelaado (Anexo 2 Tabela 34) os resultados são considerados equivalentes (Tabela 10).

Tabela 10 – Valores obtidos na avaliação da exatidão

Elemento	Valor Certificado (NIST)	Valor Encontrado	t Calculado
Água	56 ± 0,3 μgL^{-1}	54 ± 0,4 μgL^{-1}	0,8 < 4,3 ($t_{\text{crítico}}$)

(n=3; $\alpha = 0,05$; $t_{\text{crítico}} = 4,3$).

6.1.7 PRECISÃO

A precisão do método, neste caso, foi estudada através dos resultados dos padrões em três concentrações diferentes. Estudamos a repetitividade usando, sempre, as mesmas condições, a reprodutibilidade foi estudada em dias diferentes, sendo os resultados expressos pelo desvio padrão relativo (equação 5.8) e a precisão intermediária, que indica a variabilidade dos resultados, foi obtida aplicando-se a equação 5.9 (Tabela 11).

Tabela 11 – Estudo da precisão do método de arsênio em água.

Padrão de concentrações	Repetitividade* (%RSD)	Reprodutibilidade (%RSD)	Precisão Intermediária (PI)
1 μgL^{-1}	2,7	XXX	XXX
3 μgL^{-1}	8,1	14	4 x 10 ⁻³
10 μgL^{-1}	1,4	14,6	XXX

*Valor máximo aceitável para a repetitividade =20%; XXX = não foram feitos nestas concentrações.

6.1.8 ROBUSTEZ

A robustez foi testada alterando as concentrações de ácido nítrico, usadas para preservar as amostras. Foi aplicado o teste estatístico para comparação das médias. As concentrações testadas foram: 0,1%, 0,2% de ácido nítrico. Para comparar as médias foi utilizado o teste t (equação 5.10), onde, o resultado encontrado é comparado com o tabelado (Anexo 2, Tabela 35). Para aplicar a equação 5.10 é necessário antes verificar se os desvio padrões podem ser considerados equivalentes, através do teste de Snedecor equação 5.11. Comparando – se o resultado obtido através do teste de sndecor com o o tabelado (Anexo 2, Tabela 35).

6.2 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO TOTAL EM ALIMENTO.

Procedeu-se exatamente como para água sendo que alguns parâmetros sobre o método não variaram e outros variaram procedendo-se avaliação destes parâmetros conforme descrito a seguir.

6.2.1. OTIMIZAÇÃO

6.2.1.1. ESTUDO DO PROGRAMA DE TEMPERATURA: CURVAS DE PIRÓLISE E ATOMIZAÇÃO.

A curva para o estudo da temperatura de pirólise foi feita variando-se as temperaturas, iniciando-se em 600°C e aumentando-se, gradativamente, até 1400°C. Tendo-se adotado a temperatura de atomização de 2300°C (Figura 13).

Para escolher a temperatura de pirólise ideal, levamos em conta o ponto antes da queda da absorvância e, também, o pico de melhor resolução (ver Anexo 3). A temperatura de pirólise escolhida foi de 1000°C, pois nesta temperatura eliminamos o máximo de interferência da matriz sem perda do analito. A Figura 12 mostra o gráfico para estabelecer a temperatura de pirólise.

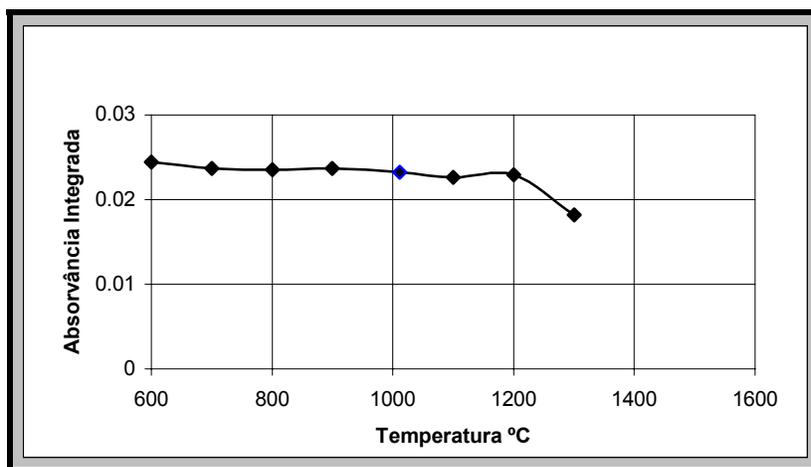


Figura 12 - Curva de pirólise para determinação de arsênio em alimento; com modificador 5 $\mu\text{g Pd}(\text{NO}_3)_2$; temperatura de atomização 2300°C ; volume de amostra de 20 μL e de modificador 5 μL e concentração de arsênio na amostra de 10 μgL^{-1} .

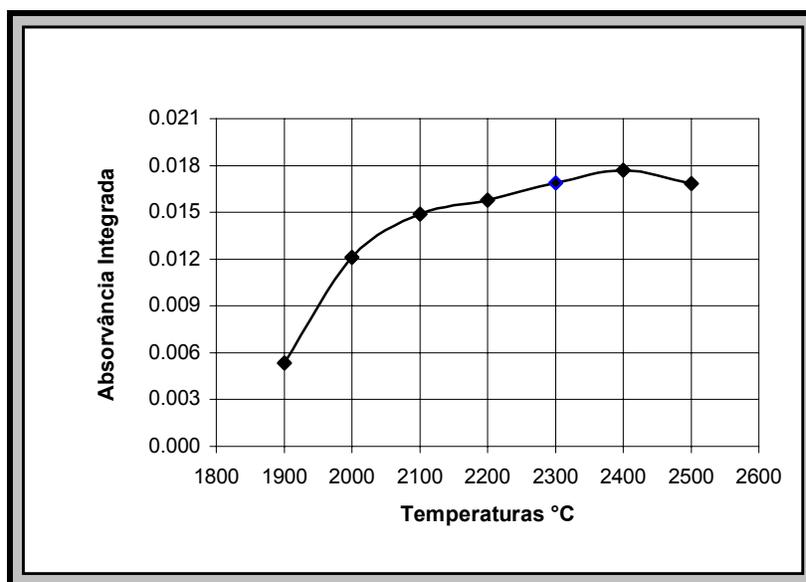


Figura 13 – Curva de atomização para determinação de arsênio em alimento; com modificador 5 $\mu\text{g Pd}(\text{NO}_3)_2$; temperatura de pirólise 1000°C ; volume de amostra de 20 μL e de modificador 5 μL e concentração de arsênio na amostra de 10 μgL^{-1} .

6.2.1.2 ESTUDO DA ESCOLHA DO MODIFICADOR

Entre os modificadores químicos convencionais mais usados, temos a solução de nitrato de magnésio e nitrato de paládio. Para este trabalho foi adicionado, como modificador, o nitrato de paládio, pois o nitrato de magnésio já havia sido adicionado às amostras durante o processo de digestão para evitar a volatilização do analito na etapa de calcinação. Como a quantidade de nitrato de magnésio, já adicionada à solução, é quarenta vezes maior do que a quantidade que se adicionaria como modificador, não foi necessário e nem vantajoso adicionar novamente. Além disso, com o $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, obtivemos melhor resolução do pico (ver Anexo 3) e temperatura de pirólise maior (Figuras 14 e 15), o que permitiu menor interferência da matriz durante a etapa de atomização.

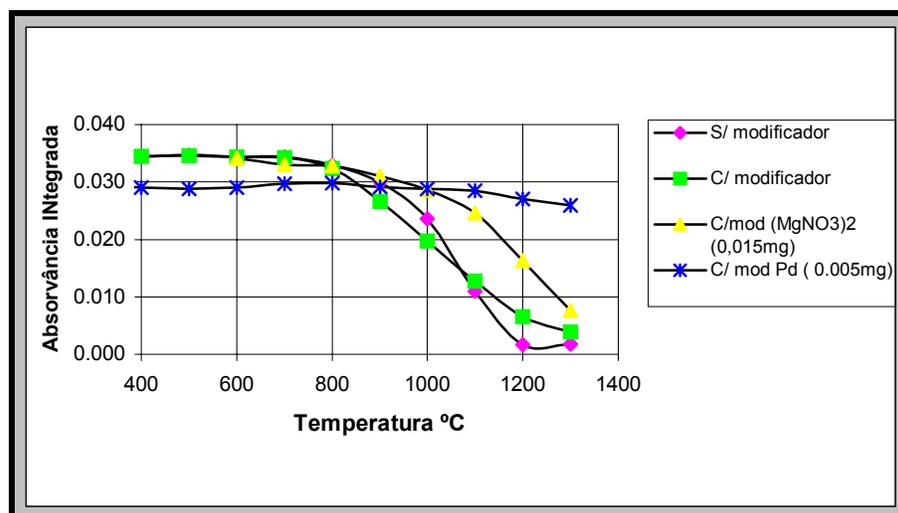


Figura 14 – Curvas de pirólise para determinação de arsênio em alimento; sem modificador, com modificador $Mg(NO_3)_2$ e com modificador $Pd(NO_3)_2$; temperatura de atomização $2300^\circ C$; volume de amostra de $20 \mu L$ e de modificador $5 \mu L$ e concentração de arsênio na amostra de $10 \mu g L^{-1}$.

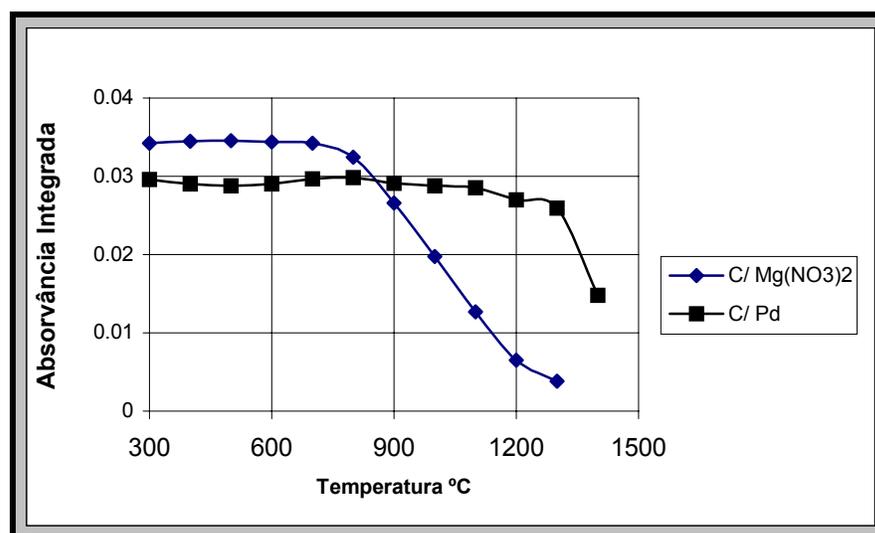


Figura 15 – Curvas de pirólise para determinação de arsênio em alimento; com modificador $Mg(NO_3)_2 = 3 \mu g$ e com modificador $Pd(NO_3)_2 = 5 \mu g$; temperatura de atomização $2300^\circ C$; volume de amostra de $20 \mu L$ e de modificador $5 \mu L$ e concentração de arsênio na amostra de $10 \mu g L^{-1}$.

6.2.2 FAIXA DE TRABALHO

O limite de referência para alimentos (VPM) varia de acordo com o produto e foi estabelecido pela Portaria nº685, de 27 de agosto de 1998 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde e pelo decreto nº 55871 de 26 de março de 1965. Estes valores variam de 0,1 a 1mgkg⁻¹.

Assim, a faixa de trabalho poderia variar de 0,01 mgL⁻¹ até 2 mgL⁻¹ (equação 5.1), no entanto, escolhemos uma faixa entre 0,001 mgL⁻¹ a 0,02 mgL⁻¹, por ser o método bastante sensível e permitir quantificar concentrações bem mais baixas do que a faixa de trabalho estabelece.

6.2.3 LINEARIDADE

Partiu-se do estudo da linearidade feito para água, tendo-se variado os pontos escolhidos para a confecção da curva analítica para alimentos (Tabela 12). A curva de calibração está indicada na Figura 16.

Tabela 12 – Concentrações utilizada para formar a curva de calibração em µgL⁻¹

Pontos	0	1	2	3	4	5
µgL ⁻¹	0	1	5	10	15	20
Abs	0,0004	0,0047	0,0177	0,0292	0,0438	0,0560

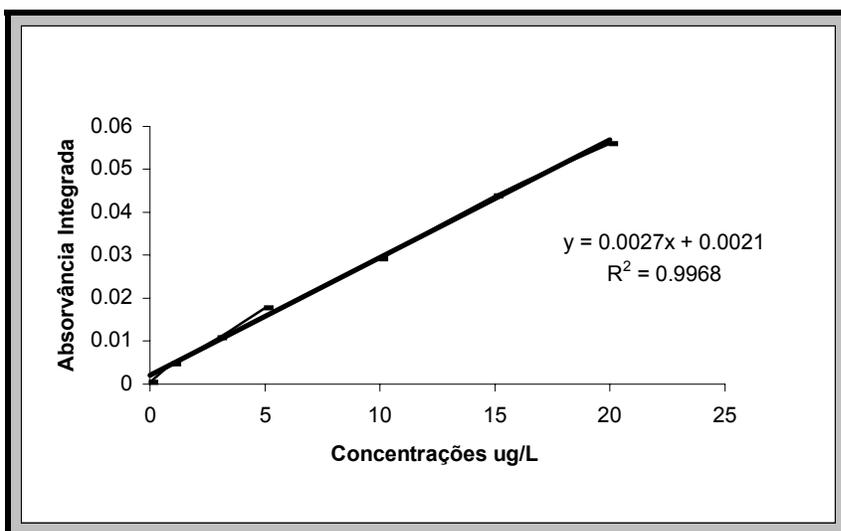


Figura 16 – Curva de Calibração para determinação de arsênio total em alimento. Tp = 1000°C e Ta = 2300°C

6.2.4 SENSIBILIDADE

A sensibilidade encontrada foi de $0,0027 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$ e a média da massa característica encontrada foi de $31,4\text{pg}/0,0044\text{abs}$. Segundo a ISO/CD 13812 é aceito até 20% ($32-48 \text{pg}/0,0044\text{abs}$) do valor dado pelo manual do aparelho que, neste caso, é de $40\text{pg}/0,0044\text{abs}$. Pelo resultado obtido podemos concluir que o nosso método apresenta uma excelente sensibilidade.

6.2.5 LIMITE DE DETECÇÃO E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

Os limites de detecção e quantificação foram determinados usando as leituras feitas com branco calcinado e aplicando-se as fórmulas 5.5 e 5.6 do Capítulo 5. Tabela 13.

Tabela 13 – Estudo do limite de detecção e quantificação.

Elemento	Modificador	$A_{\text{int}} \pm s$ 10 leituras do branco	LD (n=10) μgL^{-1}	LQ (n=10) μgL^{-1}
As	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ (0,005mg)	$0,0010 \pm 0,0003$	0,3167	1,0557

A_{int} = Absorvância integrada; s = desvio padrão; LD = limite de detecção e LQ = limite de quantificação.

6.2.6 EXATIDÃO

A exatidão foi avaliada através das amostras de referência certificadas pelo National of Standards and Technology - Nist. Compararam-se, estatisticamente, os valores obtidos, para as amostras de referência, com os valores certificados, através do teste de hipótese (teste t – equação 5.7) Tabela 14.

Tabela 14 – Estudo da exatidão do método para determinação de As total em alimentos.

Elemento	Valor Certificado (NIST)	Valor Encontrado	t Calculado
Arroz	$290 \pm 0,03 \mu\text{gkg}^{-1}$	$294 \pm 0,7 \mu\text{gkg}^{-1}$	$1,10 < 2,57$ ($t_{\text{crítico}}$)
Tomate	$112 \pm 0,004 \mu\text{gkg}^{-1}$	$111 \pm 0,15 \mu\text{gkg}^{-1}$	$1,05 < 4,30$ ($t_{\text{crítico}}$)

(Arroz- $n = 6$; $\alpha = 0,05$; $t_{\text{crítico}} = 2,57$; Tomate – $n = 3$; $\alpha = 0,05$; $t_{\text{crítico}} = 3,182$).

OBS - Tabela t de Student Anexo 2 Tabela 34.

6.2.7 PRECISÃO

A precisão do método foi estudada para o padrão de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ através da repetitividade e reprodutibilidade usando a equação 5.8 Tabela 15.

Tabela 15 – Estudo da Precisão do método para determinação de As total em alimentos.

	Repetitividade (%RSD)	Reprodutibilidade (%RSD)
Padrão concentrações de $10 \mu\text{g L}^{-1}$	1,6	18,5

6.2.8 ROBUSTEZ

O método apresentado não é robusto, pois as matrizes estudadas são muito diferentes interferindo diretamente nas condições operacionais.

6.3 AVALIAÇÃO DAS CARTAS CONTROLES

A partir da construção da carta controle para água a cada amostra de água estudada foi feito o monitoramento da análise de um padrão de $10 \mu\text{gL}^{-1}$ preparado diariamente a partir de uma solução estoque de 1000mgL^{-1} . Pode se observar que nenhum problema foi detectado com os resultados obtidos nas análises com padrão aquoso já que nenhum valor médio caiu fora da faixa de atenção e controle ao longo do estudo (Figura 17).

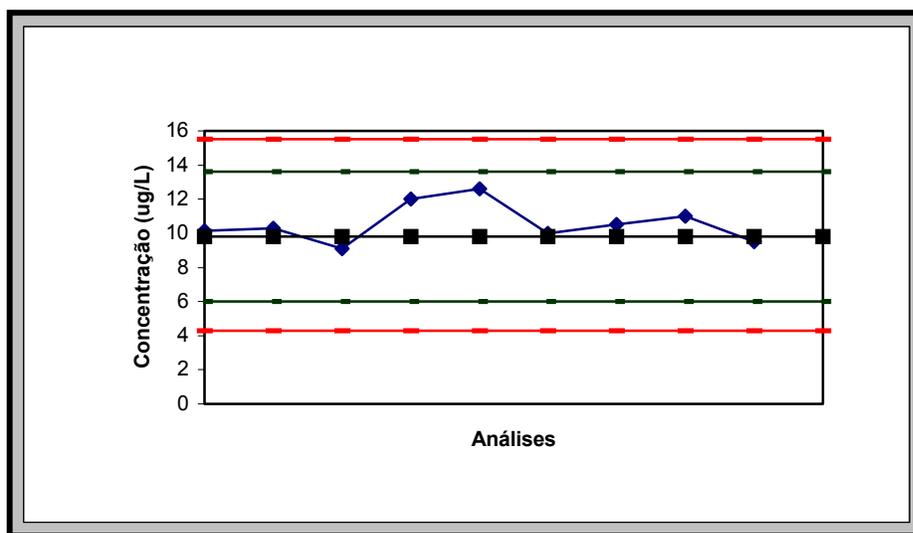


Figura 17 – Carta controle preparada a partir do padrão de $10 \mu\text{gL}^{-1}$ para monitorar as análises de água.- Linha preta – representa a média; **Linha vermelha** -representa o limite superior e inferior de atenção; **Linha verde** – representa o limite superior e inferior de controle; **Linha Azul** – representa as leituras do padrão de $10 \mu\text{gL}^{-1}$ preparados a cada nova leitura , em diferentes dias.

Do mesmo modo foi feito o monitoramento dos ensaios para alimentos. Em cada ciclo de determinação das amostras era colocado para calcinação um padrão de $10 \mu\text{gL}^{-1}$ e os resultados obtidos colocado no gráfico da carta controle (Figura 18). Pode-se observar que houve uma pequena queda nos dois últimos pontos. Esta, provavelmente, decorrente do tempo em que as amostras e padrões ficaram estocados no refrigerador, em função de um problema ocorrido no aparelho GF AAS. Mas a perda não foi significativa, estando, os padrões de monitoramento dentro da faixa de controle, não sendo necessário à exclusão destes resultados.

Do mesmo modo, as análises das amostras de alimento foram monitoradas a partir da carta controle (Figura 19) construída a partir do material certificado NIST - Rice flour - 1568^a - As = 0,29 ± 0,03 mgkg⁻¹. Embora o uso de material certificado, só garante o processo para amostras com o mesmo tipo de matriz, foi importante o seu uso, mesmo quando outras matrizes foram analisadas, pois se conhece o valor a ser obtido.

A análise da carta controle mostra que para o material de referência não foi verificado a queda nos pontos como ocorreu com os padrões após armazenamento das soluções sob refrigeração por quase vinte dias, sugerindo uma maior estabilidade do arsênio em soluções amostra após a calcinação das matrizes de tal natureza.

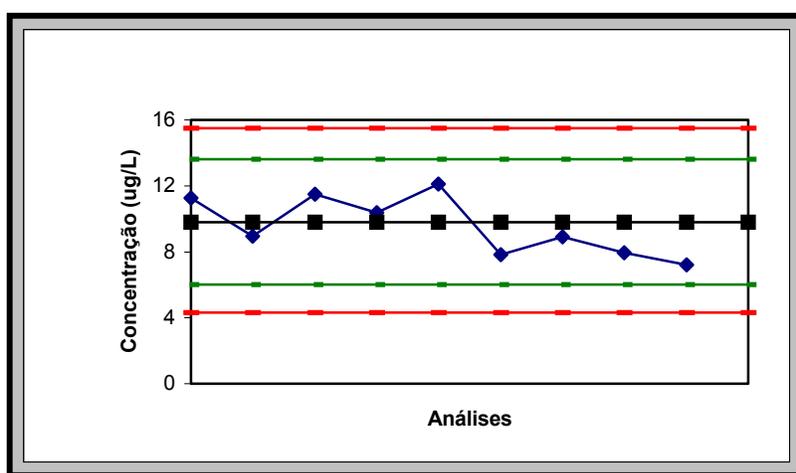


Figura 18- Carta controle preparada a partir do padrão de 10 μgL^{-1} para monitorar as análises de alimentos .- Linha preta – representa a média; **Linha vermelha** -representa o limite superior e inferior de atenção; **Linha verde** – representa o limite superior e inferior de controle; **Linha Azul** – representa as leituras do padrão de 10 μgL^{-1} preparados a cada nova análise, em diferentes dias.

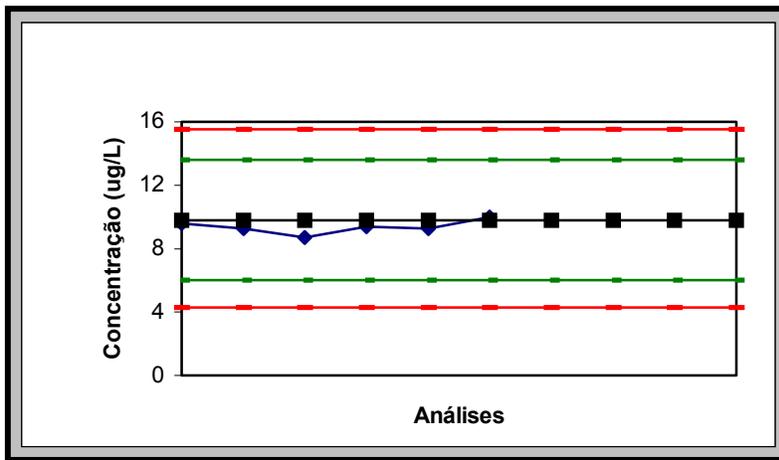


Figura 19 - Carta Controle preparada a partir do material certificado NIST - Rice Flour com concentração conhecida para monitorar as análises de alimentos. - Linha preta – representa a média; **Linha vermelha** -representa o limite superior e inferior de atenção; **Linha verde** – representa o limite superior e inferior de controle; **Linha Azul** – representa as leituras do material certificado preparado junto com as amostras a cada nova análise (diferentes amostras; em diferentes dias).

Com tal controle intralaboratorial permitiu-se verificação da reprodutibilidade analítica de todos os fatores envolvidos nas bateladas de análises garantindo o controle de possíveis erros sistemáticos e/ou originais que por ventura pudessem ocorrer.

6.4 AVALIAÇÃO METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO TOTAL

A escolha do método de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) mostrou ser uma técnica adequada para a quantificação de arsênio. Os resultados de recuperação das amostras fortificadas, apresentados na Tabela 16, mesmo apresentando interferências, mostram que com o uso de modificador e de programas adequados de temperatura é possível minimizar interferências não espectrais. Obtendo um método bastante sensível, seletivo com resultados de recuperação variando de 85 - 104%. Os valores mais baixos de recuperação foram obtidos para amostra de suco cítricos, Ades laranja. Isto pode ser explicado pela maior interferência não espectral observada através da grande diferença de sensibilidade entre a curva de adição padrão e a curva de calibração, anexo 4.

Tabela 16 – Tabela de Recuperação (%) do As total nas amostras fortificadas.

Amostras	Média _{real}	%RSD _{real}	Adic.	Média _{adic.}	%RSD _{adic.}	%Rec.
Açúcar (Amoroso)	1,7	9,1	15	6,4	4,4	96
Arroz (Uncle Ben's parbolizado)	35,5	1,4	30	45,4	4	99
Arroz (Uncle Ben's integral)	108	1,4	45	123	2,6	102
Café (Extra Clássico)	7,5	9	15	12	3,4	104
Feijão (Máximo)	3,7	6,7	15	7,7	7,7	90
*Ades (Uva)	4	5	10	9,6	2,08	96
*Ades (Laranja)	1,7	14,2	10	8,51	0,9	85
*Água (Cruz Alta)	0,27	6,4	5	5,07	3,2	96

Média_{real} = valor médio da concentração de arsênio em μgkg^{-1} das 3 replicatas das amostras verdadeiras, **%RSD_{real}**= desvio padrão relativo da amostra verdadeira, **Adic** = concentração adicionada em μgL^{-1} **média_{adic.}** = valor médio das 3 replicatas da amostra fortificada em μgkg^{-1} **%RSD_{adic.}**= desvio padrão da média fortificada, **%Rec.**= percentual de recuperação.
* Concentração de arsênio nas amostras em μgL^{-1} . – **OBS:** as marcas fortificadas foram escolhidas aleatoriamente.

Sob as condições STPF no forno de grafite, conforme mostrado no Capítulo 3, foi possível alcançar resultados precisos e exatos no intervalo de concentração necessário para as determinações de arsênio nas diferentes amostras.

O estudo da recuperação, também, permitiu detectar possíveis erros sistemáticos relacionados à perda do analito durante o processo de digestão: soluções padrões inadequadas; medidas volumétricas imprecisas; equipamentos impropriamente calibrados; reagentes contaminados e presença de interferentes na amostras causando resultados com altas ou baixas recuperações.

Pelas porcentagens de recuperação em todas as amostras estudadas, o método nos assegura que não houve perda ou contaminação durante o procedimento analítico e que a metodologia analítica está livre de erros sistemáticos. As diferenças encontradas entre os valores certificados e o valor recuperado são conseqüências de erros randômicos.

6.5 DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO TOTAL

6.5.1 ÁGUA

Para as determinações de arsênio em água os resultados obtidos usando as condições STPF e nitrato de magnésio como modificador foram excelentes. Isto é explicado pela natureza das amostras (água) estudadas serem simples, ou seja, ausente de interferências matriciais e o uso do $Mg(NO_3)_2$ como modificador químico foi somente para garantir que o arsênio não se perca nas etapas anteriores à atomização devido à sua volatilidade.

Os resultados obtidos para as amostras de água analisadas no presente estudo estão mostrados na Tabela 17.

Tabela 17 – Resultados das análises de água

Amostras	Arsênio (μgL^{-1})
HD Pós-osmose	<LQ
HD Pós-osmose	<LQ
HD Pós Osmose - reversa	<LQ
HD – Pré-filtro	<LQ
HD – Pré-filtro	<LQ
A1*	<LQ
A2*	<LQ
Mineral	<LQ
Abastecimento - Manguinhos	<LQ
Abastecimento-Humaitá	<LQ
Abastecimento-Barra	<LQ

A*- água subterrânea da região de Cruz Alta; HD – água usada no tratamento de diálise; LD = $0,1261 \mu gL^{-1}$, LQ = $1,0443 \mu gL^{-1}$.

Como se pode observar todas as amostras apresentaram teores de arsênio total bem abaixo dos valores máximo permitido pelas legislações em vigor para cada tipo de água analisada.

Os resultados foram inferiores ao limite de quantificação, $1\mu g^{-1}$. Assim, pode-se dizer que os teores de arsênio nas amostras de água subterrânea, água de abastecimento, água mineral e

água usada para hemodiálise apresentaram teores pelo menos 10 vezes inferior aos limites máximo permitido.

Água subterrânea – A região do interior do Rio Grande do Sul (Município de Cruz Alta), onde foram coletadas amostras de água, apresentava suspeita de contaminação por arsênio no lençol freático por ter funcionado, neste local, uma fábrica de dormentes. A possível contaminação seria provocada por uma substância tóxica usada para combater fungos, bactérias e insetos, conhecida com creosoto, que tem na sua formulação trióxido de arsênio (0,4%). A ausência de arsênio, nestas amostras, não garante a qualidade da água desta região em relação à contaminação por este elemento. Isto porque o número de amostras enviadas para análise foi limitado, tornando-se muito pouco representativa. Sendo assim, é válido, para trabalhos futuros, um estudo mais detalhado da região, incluindo análise de sedimentos, um número maior de amostras de água e, também, avaliação da saúde da população para, só então, poder garantir a qualidade de vida desta região em relação à ameaça de intoxicação por arsênio.

Água de abastecimento – As águas coletadas das torneiras de diferentes residências do Rio de Janeiro indicam que o tratamento de purificação das águas é satisfatório no que se refere à concentração de arsênio se existente, embora não seja o suficiente para afirmar a qualidade da água por ser pouco representativa.

Água Mineral – A análise de água mineral indica que as águas consumidas pela população são de boa qualidade em relação a contaminação por arsênio.

HD – Apesar dos valores encontrados, para as amostras de água usada no tratamento de terapia renal substitutiva (hemodiálise), estarem abaixo do limite de quantificação, é válido aplicar, como análise de rotina, a detecção e quantificação do arsênio total garantindo, desta forma, uma maior qualidade e segurança da água usada neste tipo de tratamento.

6.5.2 ALIMENTO

Os alimentos aqui estudados são matrizes complexas e mesmo com o tratamento prévio de destruição da matéria orgânica, observou-se que as soluções amostras teriam comportamentos diferentes devido as interferências não espectrais (matriciais) particulares de cada amostra. Conforme o estudo de validação, observou-se a necessidade do uso do paládio como modificador químico.

Foi constatado através da comparação das inclinações das curvas preparadas a partir de soluções padrões e aquelas soluções preparadas no mesmo meio que as amostras, conforme gráficos do anexo 4, que o uso das condições STPF e do corretor de fundo adequado não foram suficientes para eliminar totalmente as interferências não espectrais presentes nas amostras de alimentos. Na Tabela 18 estão apresentados os resultados de concentração obtidos para as diferentes curvas. Devido a estas diferenças, optou-se pelo o uso da técnica de adição padrão.

Com a técnica de adição padrão, garante-se que o analito presente nas amostras e nas soluções padrões estejam no mesmo ambiente químico e deste modo a concentração dos concomitantes é a mesma em qualquer uma das soluções. Alguns cuidados devem ser tomados, como por exemplo: à técnica só pode ser aplicada se os pontos utilizados estão na parte linear da curva e se os concomitantes não fazem diminuir ou aumentar excessivamente o sinal; como ocorreu com o suco Citrus, onde a leitura, de absorvância Integrada, era tão alta, não podendo ser analisada por esta técnica. A Tabela 19 mostra os valores encontrados através da adição padrão para as concentrações de todas as amostras estudadas.

Tabela 18 – Concentrações em μgkg^{-1} encontradas usando diferentes curvas de calibração.

Produtos	Marcas	C.calibração	C.Calcinada	C.Adição Padrão	ER 1(%)	ER 2(%)
CAFÉ*	Melita	25,5	21,8	53,6	71	84
	União -Pilão	12,5	10,2	23,2	60	77,8
	Sendas	17	18,4	44,8	90	83
	Extra Clássico	11	9	16,4	40	58
	Extra Orgânico	15,6	15,4	23,28	39	40
	Nescafé	11,4	9,2	19,8	54	36
ARROZ*	U. Ben's integral	44,5	52,5	180,6	121	109
	U.Bem's parbolizado	39,5	35	58,4	38,6	50
	Carreteiro	44,5	54,5	95,4	72,8	54,5
	Extra	47	55	135	96,7	84
	Tio João	42	36	128	101	108
	Tio João parbolizado	43	51	49	13	4
	Blue Ville	38,5	45	82,2	72	58
FEIJÃO*	Combrasil	<LQ	<LQ	<LQ	XX	XX
	Carreteiro	<LQ	<LQ	<LQ	XX	XX
	Biju	<LQ	<LQ	18,9	XX	XX
	Máximo	<LQ	<LQ	<LQ	XX	XX
AÇÚCAR*	União light	<LQ	2,3	<LQ	XX	XX
	Extra Adoçante	<LQ	1,4	<LQ	XX	XX
	Extra	<LQ	1,4	<LQ	XX	XX
	Amoroso	2,7	4,3	<LQ	XX	XX
TOMATE*		10,4	8,3	15,5	40	60
SUCOS**	Uva	3,6	XXX	43,8	169	XX
	Citrus	XX	XX	XX	XX	XX
	Ades Uva	<LQ	XX	<LQ	XX	XX
	Ades Laranja	<LQ	XX	14	XX	XX

*Amostras calcinadas; ** - Amostras não calcinadas; C.calibração – Concentração na amostra em μgkg^{-1} calculada a partir da curva de calibração aquosa; C.calcinada – Concentração calculada na amostra em μgkg^{-1} a partir da curva calibração feita com padrões calcinados; C.Adição Padrão – Concentração calculada na amostra em μgkg^{-1} a partir da curva de adição padrão; ER1(%) – Erro relativo calculado entre as curva de calibração aquosa e de adição padrão; ER 2(%) – Erro relativo calculado entre as curva de calibração calcinada e de adição padrão. OBS: O “X” significada que não foi calculado a concentração de arsênio total pela curva correspondente.

Tabela 19 – Resultados da concentração de arsênio nas amostras de alimento.

Produto	Marca	Concentração (μgkg^{-1})			
		A	B	C	Média (I.C.)
Café	Melita	53,7	53,5	53,4	53,5 \pm (0,3)
	Sendas	45,1	44,4	44,8	44,7 \pm (0,9)
	União	23,3	23,1	23,0	23,1 \pm (0,3)
	Nescafé	19,9	19,7	20	19,8 \pm (0,3)
	Extra Clássico	16,3	16,4	16,1	16,2 \pm (0,3)
	Extra Orgânico	23,1	23,4	23,5	23,3 \pm (0,5)
Arroz	Arroz U. Ben's parbolizado	58,8	58,0	58,6	58,4 \pm (1)
	Arroz U. Ben's integral	180,4	180,8	180,6	180,6 \pm (0,5)
	Arroz Carreteiro	98,4	96,2	95,4	96,6 \pm (3)
	Arroz Extra	134,2	132,8	134	134 \pm (0,5)
	Arroz Tio João	128,1	133,8	131,9	131 \pm (2)
	Arroz Tio João parbolizado	49	50,1	49,6	49,5 \pm (1)
	Arroz Blue Ville	82,0	82,4	82,4	82,3 \pm (1)
Feijão	Combrasil	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Carreteiro	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Biju	18,9	18,9	18,8	18,8 \pm (0,1)
	Máximo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Açúcar	União	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Extra	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Extra	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Amoroso	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Hortaliça	Tomate	15,1	14,9	16,6	15,5 \pm (2)
Amostras Líquidas*	Suco - Uva	43,6	43,8	43,9	43,8 \pm (0,4)
	Suco - Ades laranja	14,5	13,9	14	14 \pm (0,8)
	Suco -Ades Uva	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Suco - Citrus	XX	XX	XX	XX
	Vinagre Branco - Sendas	5,2	5,8	5,2	5,4 \pm (0,8)
	Vinagre Tinto - Sendas	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

A - Concentração de As na amostra 1 μgkg^{-1} ; B-Concentração de As na amostra 2 μgkg^{-1} ; C-Concentração de As na amostra 3 μgkg^{-1} ; Média = concentração média das três amostras (A,B,C); I.C = Intervalo de confiança. * Amostras líquida concentração de arsênio em μgL^{-1} .

Conforme podemos observar através da Tabela 19 os maiores resultados foram encontrados para amostras de arroz, sendo que eles podem ser diferenciados devido ao tipo de arroz. O arroz integral apresentou maior teor de arsênio, seguido do arroz conhecido como branco, e por último seria o parboilizado que é o arroz que passa por um processo de pré-cozimento de grão, chamado de Tratamento Hidrotérmico. Estes valores vieram a confirmar as pesquisas bibliográficas feita e relatadas no Capítulo 1 item 1.6 onde foram encontrados vários casos de contaminação de arroz por arsênio.

As amostras de café apresentaram teores de arsênio dentro do limite máximo permitido. Após a colheita a contaminação deste produto depende das condições climáticas e de armazenamento, sendo permitido a aplicação de o herbicida organoarsenical aos grãos em “pós-emergência”.

Os teores de arsênio nas amostras de feijão e o açúcar ficaram abaixo do limite de quantificação do método. Podemos dizer então, que a concentração de arsênio nestas amostras se encontra abaixo de $8 \mu\text{gkg}^{-1}$.

Embora o resultado do tomate não seja significativo, pois apenas uma amostra foi analisada, esta apresentou uma quantidade bastante baixa de $15 \mu\text{gkg}^{-1}$.

As amostras de sucos foram analisadas, sem sofrer qualquer tratamento, sendo apenas diluídas em água, evitando assim, alterações nas formas químicas do arsênio. Podemos observar que houve uma variação grande entre as concentrações obtidas. Estas diferenças podem ser explicadas não só por seus produtos serem de natureza distinta, diferentes frutas, mas também pelo uso de aditivos intencionais (conservante, estabilizantes, corantes) que são usados pelos fabricantes.

Na determinação do arsênio total nas amostras do suco Citrus (laranja + tangerina e limão) observou-se uma elevada leitura e a formação de um precipitado dentro do forno que impediu que a análise fosse finalizada.

Foram feitas comparações entre as formulações dos sucos estudados e observou-se que nesta amostra é usado estabilizante, goma Xantana + goma éster + amido modificado, diferente dos outros produtos que não declaram o uso de estabilizantes. Descobriu-se que a goma Xantana possui arsênio em sua formulação (Universidade Estadual de Campinas)

Considerando a presença de arsênio na formulação a amostra foi calcinada de modo a destruir a matriz orgânica para se tentar proceder a análise. No entanto, mesmo com a amostra

calcinada, verificou-se a formação de um composto inutilizando o forno e, conseqüentemente, impedindo a análise desta amostra pela GF AAS.

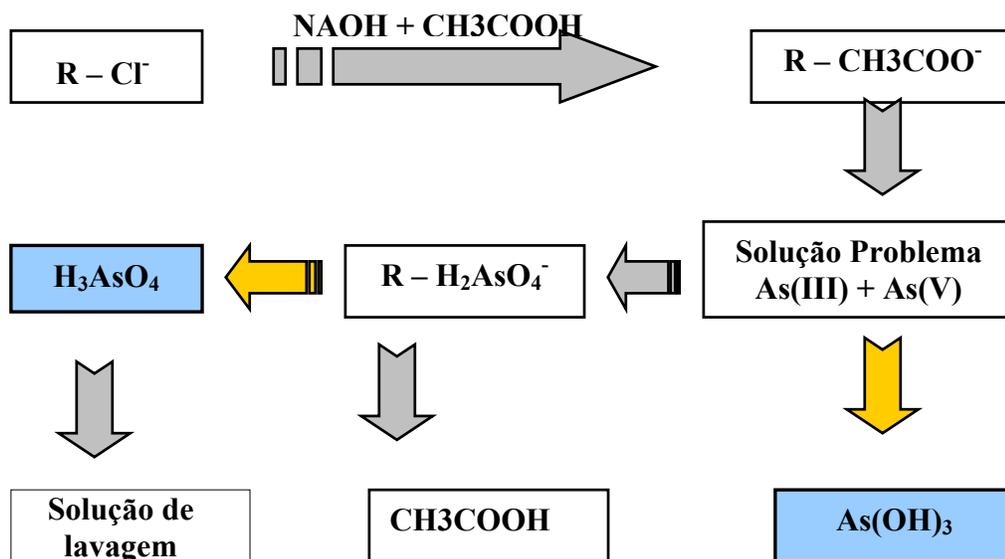
6.6 ESTUDO DA METODOLOGIA ANALÍTICA DE SEPARAÇÃO DAS ESPÉCIES DE As(III) e As(V)

Para realizar a determinação das espécies de As (III) e As (V) utilizamos uma mini coluna vidro (10 cm X 1cm i.d.) preenchida com resina aniônica (Dowex 1-X8, forma de Cl⁻) o que permite a permuta de ânions.

A separação das espécies As(III) e As(V) é dependente do pH, isto porque num pH básico o ácido arsenioso se dissocia, ficando com uma carga negativa o que permitiria a troca com a resina, já num pH ácido, que é o escolhido para a separação, o As(III) não se dissocia e o ácido arsênico fica na forma de H₂AsO₄⁻ o que permite a troca com a resina.

Para que a troca entre os íons ocorra, é necessário converter a resina para a forma de acetato, que se dá através da passagem de uma solução de 1mol de NaOH mais uma solução de 4 mol de CH₃COOH. Desta forma, onde havia cloreto passa a existir acetato que é um íon mais fraco que o H₂AsO₄⁻, permitindo, assim, a permuta destes. Para deslocar o As(V) que fica ligado à resina, é necessário o uso de um ácido forte, neste caso, o HCl, pois ele reage facilmente com metais, bases e sais (Fluxograma 1). Além disso, o ácido nítrico não se mostrou eficiente para retirar o As(V) que se encontra ligado na resina.

Fluxograma 1 – Esquema de Separação das espécies As(III) e As(V) numa mini-coluna de vidro preenchida com uma resina de troca de ânions (Dowex 1-X8).



A realização da especiação de arsênio não depende, apenas, das condições de funcionamento da coluna, mas, também, da forma com que as amostras são conservadas e coletadas. O ideal é que as análises sejam feitas até 24 horas após a coleta, sem que seja adicionado nenhum tipo de conservante. Caso seja necessário o uso de um conservante, pode-se usar EDTA, ou ácido sulfúrico, que se mostram bastante eficiente conforme relatado por Francesconi, 2004.

O uso do ácido nítrico como conservante para análise de especiação de arsênio não é recomendado porque este é fotossensível podendo - se reduzir a ácido nitroso levando assim à oxidação do As(III) à As(V). Caso o objetivo seja, apenas, a análise do arsênio total, é válido o uso do ácido nítrico a fim de preservar o analito.

As formas químicas e a estabilidade relativa do arsênio tornam difícil entender as reações que ocorrem entre eles. O As(V) é geralmente estável num pH ácido, enquanto o As(III) é estável em um pH básico. Mas isso não pode ser tomado como regra porque as formas do arsênio dependem muito da matriz em que se encontram.

O estudo do método foi feito com adição de quantidade conhecida de As(III) e As(V) em água. Também foram escolhidas as amostras alimentícias líquidas.

O resultado do estudo das condições ideais de separação da coluna está descrito abaixo.

6.6.1 INFLUÊNCIA DO pH

Por ser o processo de separação dependente do pH, fez-se variar o pH da solução entre 2 e 5 (abaixo do pKa do ácido arsenioso ($pK_{a1} = 9,2$; $pK_{a2} = 12,1$; $pK_{a3} = 13,4$) e acima do pKa do ácido arsênico ($pK_{a1} = 2,2$; $pK_{a2} = 6,9$; $pK_{a3} = 11,5$)). Uma solução contendo $10 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(III) foi passada, através da coluna, e, por ter o seu pKa menor, ela não se dissocia, sendo, então, recolhida em um frasco para posterior determinação. No entanto, quando uma solução, contendo $10 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(V), passa através da coluna, com o mesmo pH da anterior, a carga negativa do As(V) se liga, quantitativamente, à resina aniônica. Para eluir, então, o As(V) da coluna, são passados 5mL de HCl de 1 molL^{-1} . Este estudo demonstra que a separação é possível e é dependente do pH com o qual se trabalha.

6.6.2 INFLUÊNCIA DA VAZÃO COM QUE A AMOSTRA PASSA ATRAVÉS DA COLUNA

Foram analisados várias vazões de fluxo, com o objetivo de se verificar a eficácia da coluna na retenção do As(V). Para tanto, foi usada uma solução padrão, contendo $10 \mu\text{gL}^{-1}$ de arsênio pentavalente e a vazão variou entre $0,5 \text{ mLmin}^{-1}$ e 2 mLmin^{-1} . A vazão que melhor resultado apresentou, foi a de 1 mLmin^{-1} , como pode ser observado no gráfico da Figura 20.

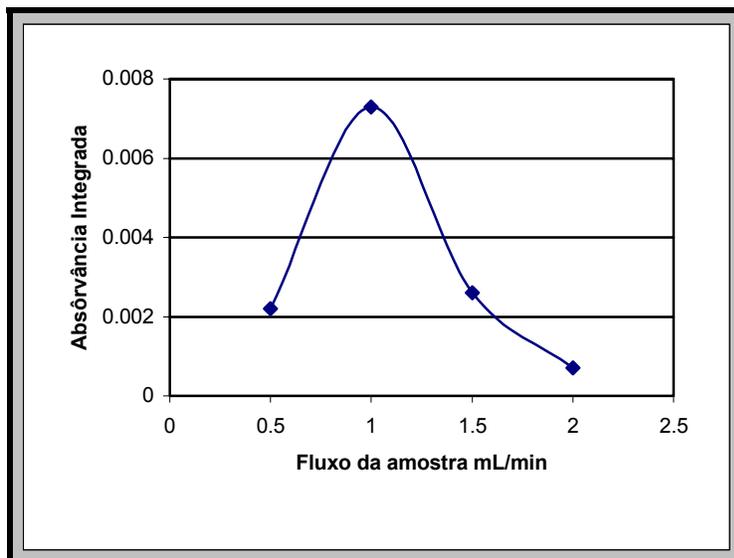


Figura 20 – Influência do fluxo da amostra na retenção/ eluição do As(V) através da coluna vidro preenchida com uma resina de troca de íons, usando uma bomba peristáltica.

6.6.3 INFLUÊNCIA DO VOLUME E CONCENTRAÇÃO DE HCl

Para retirar o As(V) que fica retido na coluna, foi usado o ácido clorídrico. Neste caso, foram estudados, para se obter melhores respostas, diferentes volumes e concentrações do HCl. A concentração variou de 0,12 molar até 3 molar com o objetivo de retirar o As(V) que se ligou a resina de troca iônica após a passagem de uma solução padrão contendo $10 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(V) num volume de 5mL e numa vazão de 1mLmin^{-1} , como pode ser observado no gráfico correspondente da Figura 21.

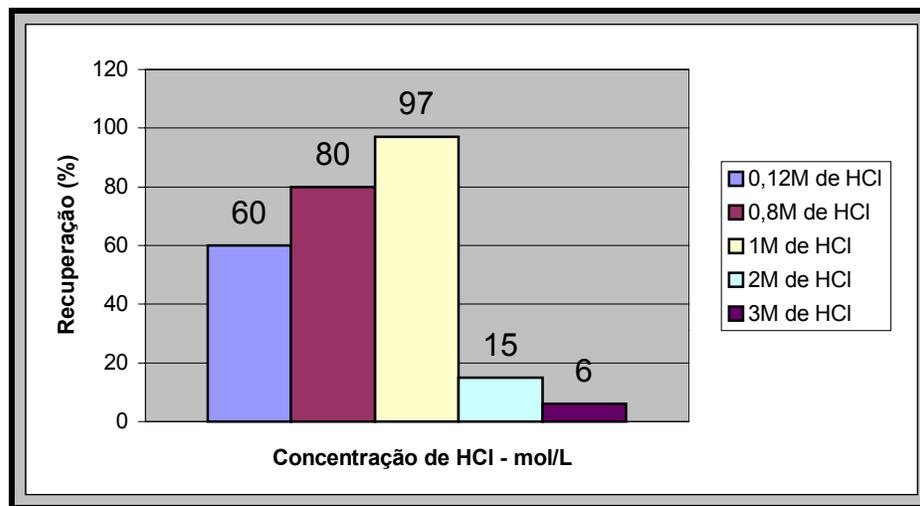


Figura 21 – Estudo da concentração do HCl na eluição do As(V) da coluna vidro preenchida com a resina de troca iônica; volume de HCl 5mL numa vazão de 1mLmin^{-1} - resultados apresentados no topo do gráfico indicam a percentagem de recuperação do As(V) que foi eluido da coluna .

Após a escolha da concentração de 1molL^{-1} variamos, também, o volume de HCl conforme apresentado no gráfico da Figura 22.

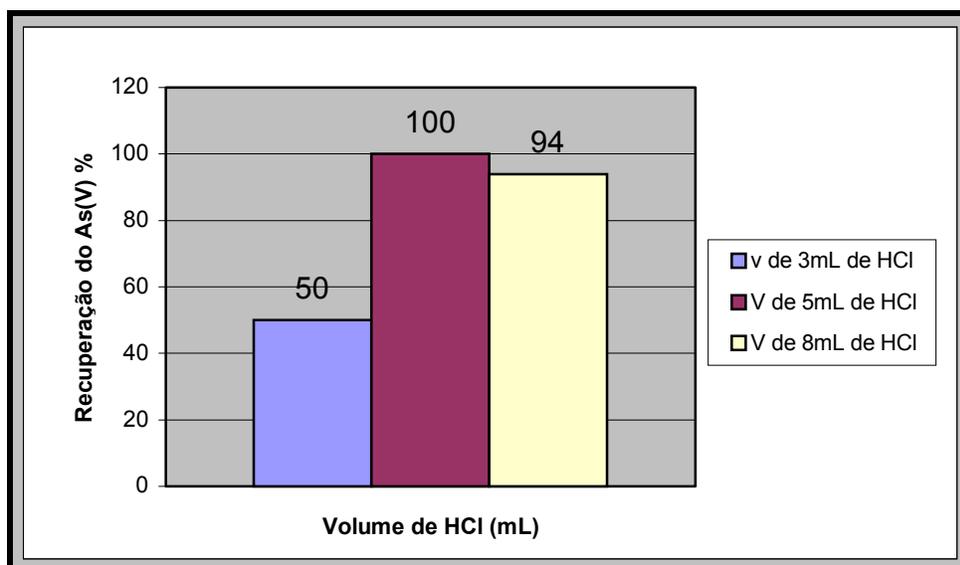


Figura 22 – Estudo do volume mínimo de HCl necessário para deslocar quantitativamente o As(V) da coluna vidro preenchida com a resina de troca iônica; concentração do HCl 1 molL^{-1} numa vazão de 1 mLmin^{-1} - resultados apresentados no topo do gráfico indicam a percentagem de recuperação do As(V) que foi eluído da coluna .

6.6.4 INFLUÊNCIA DO VOLUME DA AMOSTRA

Por último, estudamos o volume da amostra que é passada através da coluna. Para isso, foi usado um padrão de $10 \text{ } \mu\text{gL}^{-1}$, em diferentes volumes que variaram entre 2 mL a 10 mL. O gráfico da Figura 23 mostra a influência do volume, na retenção As(V). O volume mínimo para se obter uma boa recuperação é 3 mL, sendo que o melhor volume é de 5mL, podemos observar, ainda que até o volume de 10 mL de amostra se consegue bons resultados de recuperação, podendo, ainda o volume ser aumento.

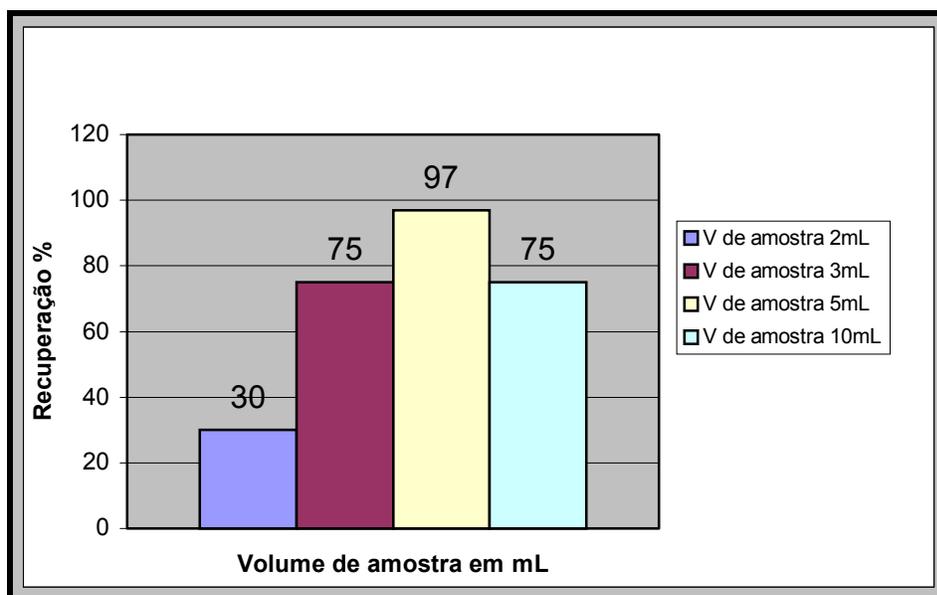


Figura 23 – Estudo da influência do volume de amostra que passa através da coluna de vidro preenchida com resina de troca iônica na retenção do As(V); Solução padrão contendo $10 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(V), volume de HCl para eluir o As(V) 5mL numa concentração de 1 molL^{-1} e a vazão com que amostra e o HCl passam através da coluna de 1 mLmin^{-1} .

6.6.5 PRECISÃO

Uma vez definidas as condições ideais de trabalho, estudamos a precisão do método através da repetitividade e reprodutibilidade do As(III) e do As(V). As Tabelas 20 e 21 mostram os resultados obtidos para a repetitividade e reprodutibilidade das espécies estudadas separadamente.

Tabela 20 - Recuperação do As (III) e As (V) na resina Dowex 1 - X8

Valor Inicial - μgL^{-1}	Arsênio (III)		Arsênio (V)	
	Encontrado - μgL^{-1}	Rec. %	Encontrado - μgL^{-1}	Rec. %
2,5	$2,6 \pm 0,15$	104	$2,2 \pm 0,2$	88
5	$4,7 \pm 0,2$	88	$5,2 \pm 0,2$	104
10	$11 \pm 1,5$	110	10 ± 1	100
20	$21,5 \pm 1,04$	107	$19 \pm 1,04$	96

Rec. % - Recuperação %

Tabela 21 – Resultados obtidos para repetitividade e reprodutibilidade.

	As(III)	As(V)
Repetitividade %RSD	3,3	14
Reprodutibilidade %RSD	12	14

Após estudar cada uma das espécies de arsênio, separadamente, misturamos as duas espécies e obtivemos os resultados apresentados nas Tabelas 22 e 23.

Tabela 22 – Recuperação do As total após a passagem pela coluna de vidro preenchida com a resina da troca iônica Dowex 1-X8.

Concentração As total μgL^{-1}	Valor Inicial - μgL^{-1}		Recuperação total %
	As(III)	As(V)	
10	5	5	87,5
20	10	10	95
12,5	2,5	10	105
12,5	10	2,5	94,6

A repetitividade e a reprodutibilidade foram analisadas através de uma mistura de $5 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(III) e $5 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(V). Para a repetitividade utilizaram-se, sempre, as mesmas condições de trabalho enquanto que para a reprodutibilidade alternaram-se os dias.

Tabela 23 – Resultados do desvio padrão relativo (% RSD) da repetitividade e reprodutibilidade em solução padrão contendo $5 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(III) e $5 \mu\text{gL}^{-1}$ de AS(V).

	As (III)	As(V)
Repetitividade (%RSD)	3	12,6
Reprodutibilidade (%RSD)	10	13

6.7 O ESTUDO DA POSSIBILIDADE DE SEPARAR AS ESPÉCIES As(III) e As(V) EM ÁGUA

Considerando que as amostras de água estudadas apresentaram teores de arsênio inferior ao limite de quantificação do método de determinação o estudo de especiação não foi feito com estas amostras.

6.8 O ESTUDO DA POSSIBILIDADE DE SEPARAR AS ESPÉCIES As(III) e As(V) EM AMOSTRAS ALIMENTÍCIAS LÍQUIDAS

6.8.1 VINAGRE

O uso do método de separação nas amostras de vinagre (branco e tinto), só foi possível ser realizado porque as amostras foram fortificadas ($5 \mu\text{gL}^{-1}\text{As(III)} + 5 \mu\text{gL}^{-1}\text{As(V)}$). Isto porque os valores encontrados para arsênio total estavam abaixo do limite de quantificação.

O estudo da recuperação do As(III), do As(V) e do As total nas amostras de vinagre está apresentado na Tabela 24.

Tabela 24 – Recuperação do As total em amostras de vinagre adicionadas de $10 \mu\text{gL}^{-1}$ de arsênio ($5 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(III) + $5 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(V))

Amostra	Recuperação total (As (III) + As (V))
Vinagre Branco	88-95%
Vinagre Tinto	84 –91%

Tabela 25– Reprodutibilidade da determinação de As total fortificado ($5 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(III) + $5 \mu\text{gL}^{-1}$ de As(V)) em amostras de vinagre analisadas em dias diferentes

Amostra	Recuperação total (As (III) + As (V))
Vinagre Branco	96-110%
Vinagre Tinto	80 – 82%

Tabela 26 – Recuperação dos padrões e das amostras fortificadas após a passagem pela coluna.

	As (adicionado)		As (encontrado)		Recuperação (%)	
	As (III)	As(V)	As (III)	As(V)	As (III)	As(V)
Padrão _{(As(III))}	5	Zero	4,7	Zero	94	Zero
Padrão _{(As(V))}	Zero	5	Zero	4,6	Zero	92
Padrão _{(As(III) + As(V))}	5	5	4,1	5,7	82	114
Vinagre Branco	5	5	3,2	6	64	120
Vinagre tinto	5	5	2	6,8	40	136

A maior concentração de As(V) encontrada pode ser explicada pela natureza da matriz da amostra em estudo. Por ser a matriz ácida acético, existe a influência desta no estado de oxidação do arsênio. Assim, o As(III) presente pode ter se oxidado a As(V) gerando resultados de recuperação superior a 100% conforme a Tabela 22.

Tabela 27 – Resultado da repetitividade da separação pra matriz vinagre após adição de quantidade conhecida de arsênio.

	Vinagre Branco				Vinagre Tinto			
	Média %	s	S ²	%RSD	Média %	S	S ²	%RSD
As (III)	64	4,5	20	7	40	5,3	28	7,4
As(V)	120	3,6	13	8,8	136	6,3	2,5	4,5
As total	92	2,08	4,3	2,65	88	4	16	4,8

Média = valor da média de recuperação das seis repetições; **s** = desvio padrão; **S²** = Variância; **%RSD** = desvio padrão relativo da recuperação.

Tabela 28– Resultados da reprodutibilidade da recuperação do método

	Vinagre Branco				Vinagre Tinto			
	Média %	s	S ²	%RSD	Média %	S	S ²	%RSD
As (III)	69	6,08	37	8,8	44,6	6,6	44,6	14,9
As(V)	111	7	52	6,5	114	5,5	30	4,8
As total	79,5	0,4	0,21	5,7	113	3,8	15	25

Média = valor da média da recuperação das seis repetições; **S** = desvio padrão; **S²** = Variância; **%RSD** = desvio padrão relativo da recuperação.

Pelos resultados obtidos nas Tabelas 27 e 28 constatou-se que a separação ocorre de modo preciso (embora a matriz não tenha sido analisada com a exatidão desejada).

6.6.2 SUCO DE UVA

Para a amostra de suco de uva, a concentração média encontrada de arsênio total, através da curva de adição padrão, foi de $43,8 \pm 0,4 \mu\text{g L}^{-1}$ (ver Anexo 5).

O estudo da separação do As(III) e As(V) foi feito primeiramente passando a amostra diluída cinco vezes pela coluna. Os resultados estão apresentados na Tabela 29. Observa-se que somente 59% do arsênio total é recuperado após o processo de separação e se verifica que o arsênio restante foi liberado após o procedimento de lavagem. A solução foi analisada e um teor de $13,7 \mu\text{g L}^{-1}$ de arsênio foi encontrado. Sendo assim, a recuperação do arsênio na amostra de suco de uva seria de 90,6%.

Tabela 29 – Concentração de As total, As(III) e As(V) em suco de Uva. Técnica utilizada adição padrão

Amostra - Suco de Uva	As(III)	As(V)	As Total
Concentração - $\mu\text{g L}^{-1}$	$1,2 \pm 0,3$	$24,7 \pm 0,4$	$43,8 \pm 0,4$
Recuperação %	2,7	56,4	59%

Isto pode ser explicado pela influência da matriz, pela formação de um composto ou pela presença de outras substâncias que também reagiriam com a resina.

O estudo de recuperação do método de separação do As(III) e As(V) foi feito após a fortificação da amostra de suco de uva com $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) + $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V). Os resultados estão apresentados na Tabela 30 e comprovam que a matriz em estudo interfere no método de separação nas condições previamente validadas. Sendo, necessário um estudo mais aprofundado das condições ideais de separação em amostras, com matrizes mais complexas, pois estas, matrizes, interferem na separação das espécies As(III) e As(V) através de uma coluna de vidro preenchida com uma resina de troca de íons.

Tabela – 30: Concentrações de As (III), As(V) e arsênio total em $\mu\text{g L}^{-1}$.

	AS (adicionado)		AS (encontrado)		Recuperação	
	As (III)	As(V)	As (III)	As(V)	As (III)	As(V)
Padrão (As(III))	5	Zero	4,7	Zero	95	Zero
Padrão (As (V))	Zero	5	Zero	6,2	Zero	124
Padrão(As(III) + As(V))	5	5	3,4	5,15	67,5	103
Suco Uva (As(III) + As(V))	5	5	3,2	3	65	60

6.9 AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO CRÔNICA POR INGESTÃO DE ARSÊNIO

Conforme mencionado no Capítulo 5, segundo a Organização Mundial de saúde (OMS), o risco à saúde humana pode existir quando a ingestão de um contaminante excede o parâmetro toxicológico. Para cada elemento inorgânico este parâmetro é dado pelo PTWI. No caso particular do arsênio o valor provisional semanal máximo tolerável é de $0,015 \text{ mgkg}^{-1}$ de pesos corpóreos, sendo usado no presente trabalho $0,9 \text{ mg}$ de arsênio por semana pois considerou-se um indivíduo de 60kg .

O valor estimativo de ingestão semanal de arsênio está apresentado na Tabela 31. Este valor foi calculado a partir das concentrações mais elevadas de arsênio total experimentalmente encontrado para cada produto alimentício, Tabela 19, pois assim representamos a situação, mais crítica da ingestão de arsênio.

Segundo a Tabela 31, observa-se que o somatório da ingestão semanal de arsênio proveniente dos alimentos analisados chegou a $21,3\%$ do valor estabelecido como toxicologicamente seguro. Embora o parâmetro – PTWI de segurança não tenha sido ultrapassado, este resultado mostra a necessidade de uma avaliação mais criteriosa uma vez que somente um terço dos alimentos da cesta básica estudado, poucas amostras analisada e não se considerou a contribuição da água e nem dos alimentos marinhos, descritos nas literaturas como os de maior ocorrência de contaminação por arsênio.

Também se deve observar, que o valor teórico da ingestão semanal calculado a partir dos limites máximos permitidos para os alimentos estudados, $4,69 \text{ mg}$ de arsênio (Tabela 3) se comparado com o valor obtido a partir dos dados experimentais, $0,1984 \text{ mg}$ de arsênio (Tabela 31) este, equivale a 4% do valor teórico, o que significaria um risco bastante baixo, mas esta comparação não deve ser feita, pois os valores encontrados não representam a situação real.

Neste caso observa-se que a legislação vigente pode ser respeitada tratando-se da avaliação individual de um produto alimentício, mas numa avaliação global da ingestão total os valores podem ultrapassar aquele recomendado com toxicologicamente seguro, chegando a mais de 800% do valor recomendado.

Tabela 31 – Ingestão semanal de arsênio calculada a partir das concentrações máxima de arsênio total encontradas para diversos produtos alimentícios consumidos na cidade do Rio de Janeiro.

Produto	Consumo diário ** (kg/dia)	Valor amostras* mg kg⁻¹	Ingestão diária (mg/dia)	Ingestão Semanal (mg/semana)	%do PTWI
Arroz	0,10	0,180	0,018	0,126	14
Açúcar	0,10	0,008	0,0008	0,0056	0,622
Café	0,02	0,053	0,0010	0,007	0,7
Feijão	0,15	0,0189	0,0028	0,0198	2,2
Tomate	0,30	0,0155	0,00465	0,032	3,6
Σ Total	0,67	0,2754	0,0273	0,1914	21,3

7. CONCLUSÃO

Após a conclusão das análises e da avaliação dos resultados obtidos pode-se concluir que as metodologias desenvolvidas mostram-se simples e de fácil utilização, sendo de grande valia em laboratórios de rotina.

Sob as condições STPF no forno de grafite , foi possível alcançar resultados precisos, exatos e com limites de quantificação necessária para o controle da qualidade da águas em suas diversas utilidades.

O método para detecção do arsênio total mostrou, ser seletivo para a quantificação do elemento arsênio nas amostras estudadas. A repetitividade (%RSD) foi satisfatória, apresentando valores que variaram entre 0,7 (água) a 4 (alimento). A reprodutibilidade variou de 2,6 (alimento) a 12,5 (água) e a exatidão, avaliada através das análises dos materiais de certificados, apresentou resultados variando de 96 a 106%. Os limites de detecção e quantificação foram $LD = 0,1261 \mu\text{gL}^{-1}$; $LQ = 1 \mu\text{gL}^{-1}$ para água e $LD = 0,3167 \mu\text{gL}^{-1}$; $LQ = 1 \mu\text{gL}^{-1}$ para alimento.

As amostras de água analisadas apresentaram resultados satisfatórios estando todos abaixo do limite de quantificação do método que é $1 \mu\text{gL}^{-1}$ estando assim, abaixo do limite máximo permitido pela legislação em vigor para cada tipo de amostra de água estudada.

As concentrações de arsênio para todas as amostras dos produtos alimentícios estudados apresentaram valores concordantes com os limites máximos permitido pela legislação em vigor. Os limites encontrados para alimentos estudados apresentaram valores inferiores ao limite de quantificação, $8 \mu\text{gL}^{-1}$ para açúcar até um valor máximo de $180 \mu\text{gL}^{-1}$ para amostras de arroz integral. Deste modo, dos alimentos analisados somente o arroz pode vir a ser uma preocupação para a saúde publica. Não sendo possível determinar por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite, produtos, contendo o espessante ou estabilizante “xantana”.

O método de separação escolhido para determinar as espécies As(III) e As(V) foi bastante eficiente apresentando excelente precisão e exatidão em água. Também permitiu a separação das formas inorgânicas de arsênio em algumas amostras de alimento, embora a eficiência de separação seja dependente da matriz, principalmente da concentração ácida da mesma.

Os estudos de separação das espécies arsenicais podem auxiliar na especiação em diferentes amostras e colaborar na elucidação de estudos toxicológicos de interesse para saúde.

A avaliação da contaminação crônica a partir dos dados experimentais, mostrou uma ingestão de 21% do valor toxicologicamente seguro para ingestão semanal de arsênio, considerando um indivíduo de 60kg.

Apesar do pequeno número de amostras alimentícias analisadas, pode-se concluir que o valor encontrado para ingestão semanal de arsênio é elevado se considerarmos que outros produtos alimentícios amplamente consumidos pela população brasileira e relevantes quanto à incidência de arsênio não foram avaliados.

Podemos destacar, neste trabalho, além dos aspectos analíticos, os resultados obtidos que poderão contribuir com os órgãos competentes para assegurar que a população não seja exposta aos riscos que elementos tóxicos representam, para isso é essencial que os estes implementem ações para diminuir e, até, eliminar a exposição da população a estas substâncias, garantindo alimentos seguros e livres de contaminantes, o que é essencial para prevenção de doenças.

8 TRABALHOS FUTUROS

Considerando a conhecimento adquirido com o presente estudo, algumas idéias para trabalhos futuros são sugeridas abaixo:

- Analisar os teores de arsênio em outros produtos da cesta básica e da dieta pronta;
- Avaliar a exposição crônica pela ingestão de contaminantes inorgânicos relevantes para saúde pública (Cd, Hg, etc);
- Estudar o aditivo intencional, xantana, na área farmacêutica e de alimentos como possível fonte de contaminação;
- A partir do método de separação do As(III) e As(V) estudar a detecção através da geração de arsina como técnica de pré – concentração;
- Utilizar a técnica da arsina com método de separação das diferentes espécies de arsênio orgânicas e inorgânicas.



Figuras 24 e 25 – Maneiras que se pode gerar arsina processo não será “on –line”

9 BIBLIOGRAFIA

1. ANDERSON, R.K.; THOMPSON, M.; CULBARD, E. Selective reduction of arsenic species by continuous hydride generation: part I: reaction media. **Analyst**, v. 111, p. 1143-1152, Oct. 1986.
2. ANDREW, A.; MEHARG, M.D.; RAHMAN, M. Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption. **Environment Science Technologies**, v. 37, p. 229-234, 2003.
3. APOSTOLI, P. Elements in environmental and occupational medicine. **Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science**, v.778, n.1-2, Oct. 2002.
4. AZCUE, J.M. **Geochemistry of arsenic in Moira Lake, Ontário**. Waterloo, Ont., 1992. 202 f. Tese (Doutorado)-University of Waterloo, Ontário, Canada , Waterloo, Ont., 1992.
5. AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.M. **Gerenciamento da Toxicidade**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2003. 203 p.
6. BARONI, C.D. The death of Napoleon between mystery and reaty. **Pathologica**, v. 23, p. 475-480, 1997.
7. BASU, A.; MAHATA, J.; GUPTA, S, A. K. Genetic toxicology of paradoxical human carcinogen, arsenic: a review. **Mutation Research**, v. 488, p.171- 194, Feb. 2001.
8. BEATY, R.D.; KERBER, J.D. Concepts, instrumentation and techniques in atomic absorption spectrophotometry. Nowalk, Ont.: Perkin Elmer Corporation, 1993.
9. BENNETT, J.P; CHIRIBOGA, E.; COLEMAN, J.; WALLER, D.M. Heavy metals in wild rice from northern Wisconsin. **The Science of the Total Environment**, v.246, n.2-3, p. 261-269, Feb. 2000.
10. BENRAMDANE, L.; ACCOMINOTTI, M.; FANTON, L.; MALICIER, D.; VALLON, J.J. Arsenic speciation in human organs following fatal arsenic trioxide poisoning: a casa report. **Clinical Chemistry**, v. 45, n.2, p. 310-306, 1999.
11. BERG, M.; SCHERTNLEIB, R. Arsenic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: a human health threat. **Environment Science Technologies**, v.35, n.13, p. 2621- 2626, 2001.
12. BRASIL. Decreto n° 55871, de 26 de março do 1965. Modifica o Decreto n° 50040, de 24 de Janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimento,

- alterado pelo Decreto nº 691 de 13 de Abril de 1962. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 09 abr. 1965.
13. BRASIL. Portaria nº 1469, de 29 de dezembro de 2000. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Disponível em: < [http:// www.anvisa.gov.br/legis/potarias/1469-00.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/potarias/1469-00.htm)>. Acesso em: 12 fev.; 05 jul. 2004. Revogada pela portaria nº 518 de 25 de março de 2004.
 14. BRASIL. Portaria nº 36, de 19 de Janeiro de 1990. Aprova normas e o padrão de potabilidade da água destinada ao consumo humano. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 jan. 1990. Disponível em: <[http:// www.anvisa.gov.br/legis/potarias/36-00.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/potarias/36-00.htm)>. Acesso em: 15 jun. 2004.
 15. BRASIL. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece procedimento e responsabilidade relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 mar. 2004. Disponível em:< [http:// www.anvisa.gov.br/legis/potarias/518-00.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/potarias/518-00.htm)>. Acesso em: 06 jul. 2004.
 16. BRASIL. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998. Aprova o regulamento técnico: “Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos e seus anexo: “limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 set. 1998. Seção 1, parte 1.
 17. BRASIL. Portaria nº 82, de 3 de janeiro de 2000. Estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos serviços de diálise e as normas para cadastramento destes junto ao Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 08 fev. 2000.
 18. BROWN, K.G; KUO, T. L; RYAN, L.M.; ABERNATHY, C. Sensitivity Analysis of U.S. EPA’s estimates of skin cancer risk from inorganic arsenic in drinking water. **Human and Ecological Risk Assessment**, v .6, n. 6, p. 1055-1074, 2000.

19. BURLÓ, F., GUIJARRO, A. A., et al. Arsenic species: effects on and accumulation by tomato plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n.3, p. 1247- 1253, 1999.
20. CALDAS, E.D.; SOUZA, L.C.K. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista Saúde Pública**, v.34, n.5 , p. 529-37, 2000.
21. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Avaliação da qualidade do rio Ribeira de Iguape: relatório complementar**. São Paulo: CETESB, 1996.
22. CHAKRABORTI, D.; RAHMAN, M.M.; PAUL, K. et al.. Arsenic calamity in the Indian subcontinent: what lessons have been learned? **Talanta**, v. 58, p. 3-22, 2002.
23. CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Priority list of food additives, contaminants and naturally occurring toxicants proposed for evaluation by JECFA**. In: JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 25. Session, Rome, Italy, 30 jun.-5 jul. 2003. REPORT OF THE 34th SESSION OF THE CODEX COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS, Rotterdam, The Netherlands, 11-15 mar. 2002. (Alinorm 03/12, apr. 2002, appendix XVI, p. 112).
24. CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Priority list of food additives, contaminants and naturally occurring toxicants proposed for evaluation by JECFA**. In: JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 26. Session, Rome, Italy, 30 jun.-5 jul. 2003. REPORT OF THE 35th SESSION OF THE CODEX COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS, Arusha, Tanzania, 17-21 mar. 2003. (Alinorm 03/12 A, apr. 2003, appendix XV, p. 128).
25. DABEKA, R.W.; MCKENZIE, A.D; LACROIX, G.M.A. et al. Survey of arsenic in total diet food composites and estimation of dietary intake of arsenic by Canadian adults and children. **Journal of AOAC International**, v.76, p. 14-25, 1993.
26. DAS, H.K.; MITRA, A.K.; SENGUPTA, P.K.; HOSSAIN, A.; ISLAM, F.; RABBANI, G.H., Arsenic concentrations in rice, vegetables, and fish in Bangladesh: a preliminary study. **Environment International**, v.30, n.3, p. 383-387, May 2004.
27. DEDNA, J.; TSALEV, D.L. **Hydride Generation atomic absorption spectrometry**. New York: Wiley, 1995.

28. DOUDHERT C.P.; HOLTZ, S.H; REINERT, J.C.; PANYACOSIST, L., AXELARD, D.A.; WOODRUFF, T.J. Dietary exposure to food contaminants across the United States. **Environmental Research**, v.84, p. 170- 185, 2000.
29. FELDMANN, J. An appetite for arsenic. **Chemistry in Britain**, p. 31-32, Jan. 2001.
30. FLORENCE, T.M. The speciation of trace elements in water. **Talanta**, v.29, p. 345-364, Oct. 1982.
31. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance document for arsenic in selffish**. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~frf/guid-as.htm>> . Acesso em: 10 fev. 2004.
32. FRANCESCONI, K.A.; KUEHNELT, D. Determination of arsenic species: A critical review of methods and applications, 2000-2003. **Analyst**, v. 129, p. 373-395, Jan. 2004.
33. FUNK, W.; DAMMANN, V.; DONNEVERT. **Quality Assurance in Analytical Chemistry**. New York: Weinheim-VCH, 1995.
34. GILBERT, J. **Progress in food contaminant analysis**. New York: Blackie Academic & Professional, 1996. 174p.
35. GONDIN, A. Saída da Icomi do Amapá. **Jornal do Brasil**, Amapá, Amapá, Out. 2000. Disponível em: <<http://www.governodoestadoamapaarsenio.htm>>. Acesso em: 15 ago. 2003.
36. GUNDERSON, E.L. FDA total diet study 1986-April 1991: dietary intakes of pesticides, select elements and other chemicals. **Journal of AOAC International**, v.78, p. 1353-1363, 1995.
37. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA-IBGE. **Quanto se Trabalha para Comer**. Disponível em: <<http://www.diesse.org.br/rel/trafev04.htm#rio>>. Acesso: 10 jun 2004.
38. INMETRO. **DOQ-CGCRE- 008**-revisão 00: orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. Outubro 2002.
39. ISO/CD 13812-1&2: general guidelines for atomic absorption spectrometry: graphite furnace analysis: [Switzerland]: ISO, 1996.
40. JAIN, C.K.; ALI, I. Arsenic: occurrence, toxicity and speciation techniques. **Water Research**, v.34 n.17, p. 4303- 4312, Feb. 2000.
41. Joint Expert Committee on Food Additives. **2000 total diet study of 12 elements: aluminum, arsenic, chromium, copper, lead, manganese, mercury, nickel, selenium, tin and zinc**. Disponível em: <<http://www.foodstandards.gov.uk/multimedia/pdfs/fsimetal.pdf>>. Acesso: 05 abr. 2004.

42. Joint Expert Committee on Food Additives. **Arsenic**. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmano/v024je08.htm>>. Acesso em : 08 jun. 2004.
43. Joint Expert Committee on Food Additives. **PTWI for arsenic inorganic**. Disponível em: <<http://www.foodstandards.gov.uk/multimedia/pdfs/fisis4203table.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2004.
44. LAMBLE, K. J., HILL, S. J. Arsenic speciation in biological sample by on-line high performance liquid chromatography-microwave digestion- hydride generation-atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v.334, p. 261 –270, Jul. 1996.
45. LIANG, L.; LAZOFF, S.; CHAN, C.; HORVAT, M.; WOODS, J. Determination of arsenic in ambient water at sub-part-per-trillion levels by hydride generation Pd coated platform collection and GFAAS detection. **Talanta**, v.47, p. 569-583, Feb. 1998.
46. LOFFREDO, C.A; APOSHIAN, V.; CEBRIAN, M.; YAMAUCHI, H.; SILBERGED, K.E.; Variability in human metabolism of arsenic. **Environmental Research**, v.92, p. 85-91, 2003.
47. LOPEZ, A.; TORRALBA, R.; PALÁCIOS, M.A.; CÂMARA, C. Generation of AsH₃, from As (V) in the absence of KI As producing agent: speciation of inorganic arsenic **Talanta**, v.39, n.10, p. 1343-1348, Feb. 1992.
48. MAGALHÃES, V.F. **Contaminação ambiental por arsênio: o caso da Baía se Sepetiba**, RJ. Rio de Janeiro, 1996. 110 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Rio de Janeiro, 1996.
49. MAGALHÃES, V.F.; PFEIFFER, W.C. Arsenic concentration in sediments near a metallurgical plant: Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Geochemical Exploration**, v.52, p. 175-181, 1995.
50. MARAFANTE, E.; VAHTER, M. Solubility, retention, and metabolism of intratracheally and oral administered inorganic arsenic compounds in hamster. **Environmental Research**, v.42, p. 72-86, 1987.
51. MATSCHULLAT J. BORBA RP, DESCHAMPS E, et al. Human and environmental contamination the iron quadrangle, Brazil. **Applied Geochemistry**, v. 15, p. 181-190, 2000.
52. MCLELLAN, F. Arsenic contamination affects millions in Bangladesh. **Science and Medicine**, v.359, p. 1127, 2002.

53. MILLER, J.C.; MILLER, J.N. **Statistics for Analytical Chemistry**. 2.ed. England: Ellis Horwood Limited, 1998.
54. MINERALS information. mineral commodity summaries 2001: Arsenic. Disponível em : <<http://mineral.usgs.gov/minerls/pubs/commodity/arsenic/16301pdf>>. Acesso em: 27 jan. 2004.
55. MOORE, L.E.; LU, M.; SMITH, A.H. Childhood cancer incidence and arsenic exposure in drink water in Nevada. **Archives of Environmental Health**, v.57, p. 201-206, 2002.
56. NEBEL, B.J. RICHARD T. **Environmental Science: the way world works**. 5.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996.
57. SCHOOF, R.A.; Yost, L.J.; EICKHOFF, J.; et al. A Market basket survey of inorganic arsenic in food. **Food and Chemical Toxicology**, v.37, p. 839-846, 1999.
58. SCHOOF, R.A.; YOST, L.J.; EICKHOFF, J.; et al. Dietary arsenic intake in Taiwanese Districts with elevated Arsenic in drinking water. **Human and Ecological Risk Assessment**, v.4, n.1, p. 117-135, 1998.
59. SISTEMA de informação sobre agrotóxico. [Brasília]: ANVISA, [s.d.]. 1 CD-ROM.
60. SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Principles of Instrumental Analyses**. 5.ed. Orlando, Fla: Harcourt Brace College, 1992.
61. SMICHOWSKI, P.; VALIENTE, L.; LEDESMA, A. Simple method for selective determination of As (III) and As (V) by ETAAS after separation with anion exchange mini-column. **Atomic Spectroscopy**, v. 23, n. 3, p. 92-97, Jun. 2002.
62. SOUZA, R.L. **Avaliação do teor de minerais em plantas de interesse da saúde pública**. Rio de Janeiro, 2001. 141 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro, 2001.
63. STANLEY, M. E. **Environmental Chemistry**. 7.ed. London: Lewis, 2000.187 p.
64. UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 2001. **Arsenic rule benefits analysis: an SAB review**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/sab/eco/008.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2004.
65. UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **An exposure and risk assessment for arsenic**. EPA 44/4-85-005. Washington, DC: USA/EPA, 1992.
66. UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Ground Water and Drinking Water**. Disponível em: < <http://www.epa.gov/safewater/arsenic.htm> >. Acesso em: 16 jan. 2004.

67. UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA announces arsenic standard for drinking water of 10 parts per billion.** (2001). Disponível em: <<http://www.epa.gov/opa/admpre>>. Acesso em: 16 jan. 2004.
68. UNIVERSIDADE ESTDUAL DE CAMPINAS. **Xantana.** Disponível em: <http://pcserver.cpm.unicamp.br/~wloh/curso/9g661/trabalho8.html>. Acesso em 15 mar. 2004.
69. VIRARGHAVANT, T.; SUBRAMANIAN, K.S.; ARULDOSS, J.A. Arsenic in drink water- problems and solutions. **Water Science and Technology**, v.40, n.2, p. 69-76, 1999.
70. WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry.** 3.ed. New York: Wiley-VCH, 1999.
71. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Arsenic in drink water Review May 2001.** Disponível em: <<http://www.who.int/inf-fs/en/fact210.html>>. Acesso em: 28 jan. 2004.
72. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental Health Criteria 224: arsenic and arsenic compounds.** Geneva: WHO, 2001. 521 p.
73. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chemical name: arsenic inorganic.** Disponível em: <http://iter.ctcnet/publicurl/pub_view_12_non.cfm?crm=7440-38_2&type=nco>. Acesso em: 24 maio 2004.
74. YAMANAKA, K.; OHTSUBO, K.; HASEGAWA, A.; HAYASHI, H.; KANISAWA, M.; OKADA, S. Exposure to dimethylarsinic acid, a main metabolite of inorganic arsenic, strongly promotes tumorigenesis initiated by 4-nitroquinolone 1- oxide in lungs of mice. **Carcinogenesis**, v.17, p. 767 - 770, 1996.

ANEXO 1

Tabela 31 – Relação de produtos e marcas adquiridos no supermercado da Barra da Tijuca.

Café						
Marca	Tipo		Vácuo	Peso (g)		
Melita	Tradicional torrado e moído		alto	250		
União -Pilão	torrado e moído		puro	250		
Sendas	Extra - forte torrado e moído		alto	250		
Extra	Clássico-torrado e moído		puro	250		
Extra	Orgânico- torrado e moído		puro	250		
Nescafé	Original - Solúvel granulado		XXXXXXXX	50		
Feijão						
Marca	Grupo	Classe	Tipo	Peso (kg)		
Combrasil	I - Anão	preto	I	1		
Carreteiro	I - Anão		I	1	Uberabinha	
Biju	I - Anão	preto	I	1	Josapar	
Máximo	I - Anão	preto	I	1	Super	
Arroz						
Marca	Tipo	Sub grupo	Classe	Tipo	Peso (kg)	Grupo
Uncle Ben's	Integral	parbolizado	longo-fino	I	1	
Uncle Ben's		parbolizado	longo-fino	I	1	
Carreteiro		polido	longo-fino	I	1	
Extra		polido	longo-fino	I	1	beneficiado
Tio João		parbolizado	longo-fino	I	1	
Blue Ville	Branco		longo-fino	I	1	
Açúcar						
Marca	Tipo	P.ativo		Peso (kg)		
União	Light	Sacarose + Sucralose		1		
Extra	Adoçante	Aspartame		0,05		
Extra	Refinado	Cana de açúcar (sacarose)		1		
Amoroso	Extra - fino	Sacarose		1		
Barra	refinado	Sacarose		1		
Sucos						
Marca	Sabor	Forma	Volume (mL)	Tipo		
Maguary	Uva	liquido	500	normal		
Addes	Uva	liquido	250	normal		
Addes	Laranja	liquido	250	normal		
Citrus	Laranja + Tangerina + limão	liquido	300	normal		
Vinagre						
Marca	Tipo		Volume (mL)	pH		
Extra	Vinagre Branco		770	3		
Extra	Vinagre Tinto		770	3		

Tabela 32– Quanto se trabalha para comer – Rio de Janeiro, Janeiro de 2004.

Produto	Quantidades	Gasto Mensal		Variação anual %	Tempo de Trabalho ⁽¹⁾	
		Janeiro de 2003 R\$	Janeiro de 2004 R\$		Janeiro de 2003	Janeiro de 2004
Carne	6 kg	41,82	48,42	15,78	46h00m	44h23m
Leite	7,5 l	8,25	9,30	12,73	9h05m	8h32m
Feijão	4,5 kg	11,30	9,81	-13,19	12h26m	9h00m
Arroz	3 kg	5,79	7,23	24,87	6h22m	6h38m
Farinha	1,5 kg	2,84	2,39	-15,84	3h07m	2h11m
Batata	6 kg	7,50	5,46	-27,20	8h15m	5h00m
Tomate	9 kg	11,25	19,98	77,60	12h23m	18h19m
Pão	6 kg	29,88	30,12	0,80	32h52m	27h37m
Café	600 g	4,68	5,26	12,39	5h09m	4h49m
Banana	7,5 dz	11,63	13,28	14,19	12h48m	12h10m
Açúcar	3 kg	3,99	3,15	-21,05	4h23m	2h53m
Óleo	900 ml	2,79	2,67	-4,30	3h04m	2h27m
Manteiga	750 g	9,02	9,81	8,76	9h55m	9h00m
Total da Cesta		150,74	166,88	10,71	165h49m	152h58m

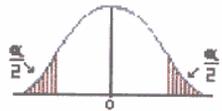
(1) Tempo que o trabalhador de saída mínimo precisa para comprar a Ração Essencial ([Decreto Lei no. 399 de 30/04/1938](#)).

ANEXO 2 - Tabelas Estatísticas

Tabela 33 – Distribuição C de Cochran

k	$n_j = 2$	$n_j = 3$	$n_j = 4$	$n_j = 5$	$n_j = 6$
2	-	0.975	0.939	0.906	0.877
3	0.967	0.871	0.798	0.746	0.707
4	0.906	0.768	0.684	0.629	0.590
5	0.841	0.684	0.598	0.544	0.506
6	0.781	0.616	0.532	0.480	0.445
7	0.727	0.561	0.480	0.431	0.397
8	0.680	0.516	0.438	0.391	0.360
9	0.638	0.478	0.403	0.358	0.329
10	0.602	0.445	0.373	0.331	0.303
11	0.570	0.417	0.348	0.308	0.281
12	0.541	0.392	0.326	0.288	0.262
13	0.515	0.371	0.307	0.271	0.243
14	0.492	0.352	0.291	0.255	0.223
15	0.471	0.335	0.276	0.242	0.220
16	0.452	0.319	0.262	0.230	0.208
17	0.434	0.305	0.250	0.219	0.198
18	0.418	0.293	0.240	0.209	0.189
19	0.403	0.281	0.230	0.200	0.181
20	0.389	0.270	0.220	0.192	0.174
21	0.377	0.261	0.212	0.185	0.167
22	0.365	0.252	0.204	0.178	0.160
23	0.354	0.243	0.197	0.172	0.155
24	0.343	0.235	0.191	0.166	0.149
25	0.334	0.228	0.185	0.160	0.144
26	0.325	0.221	0.179	0.155	0.140
27	0.316	0.215	0.173	0.150	0.135
28	0.308	0.209	0.168	0.146	0.131
29	0.300	0.203	0.164	0.142	0.127
30	0.293	0.198	0.159	0.138	0.124

Tabela 34 – Distribuição t de Student



α	0,50	0,25	0,10	0,05	0,025	0,01	0,005
l							
1	1,0000	2,4142	6,3138	12,7062	25,5420	63,6567	127,3213
2	0,8165	1,6036	2,9200	4,3127	6,2053	9,9248	14,0890
3	0,7649	1,4226	2,3534	3,1825	4,1765	5,8409	7,4533
4	0,7407	1,3444	2,1318	2,7764	3,4954	4,6041	5,5976
5	0,7267	1,3009	2,0150	2,5706	3,1634	4,0321	4,7733
6	0,7176	1,2733	1,9432	2,4469	2,9687	3,7074	4,3168
7	0,7111	1,2543	1,8946	2,3646	2,8412	3,4995	4,0293
8	0,7064	1,2403	1,8595	2,3060	2,7515	3,3554	3,8325
9	0,7027	1,2297	1,8331	2,2622	2,6850	3,2498	3,6897
10	0,6998	1,2213	1,8125	2,2281	2,6338	3,1693	3,5814
11	0,6974	1,2145	1,7959	2,2010	2,5931	3,1058	3,4966
12	0,6955	1,2089	1,7823	2,1788	2,5600	3,9545	3,4284
13	0,6938	1,2041	1,7709	2,1604	2,5326	3,0123	3,3725
14	0,6924	1,2001	1,7613	2,1448	2,5096	2,9768	3,3257
15	0,6912	1,1967	1,7530	2,1315	2,4899	2,9467	3,2860
16	0,6901	1,1937	1,7459	2,1199	2,4729	2,9208	3,2520
17	0,6892	1,1910	1,7396	2,1098	2,4581	2,8982	3,2225
18	0,6884	1,1887	1,7341	2,1009	2,4450	2,8784	3,1966
19	0,6876	1,1866	1,7291	2,0930	2,4334	2,8609	3,1737
20	0,6870	1,1848	1,7247	2,0860	2,4231	2,8453	3,1534
21	0,6863	1,1831	1,7207	2,0796	2,4138	2,8314	3,1352
22	0,6858	1,1816	1,7171	2,0739	2,4055	2,8188	3,1188
23	0,6853	1,1802	1,7139	2,0687	2,3979	2,8073	3,1040
24	0,6848	1,1789	1,7109	2,0639	2,3910	2,7969	3,0905
25	0,6844	1,1777	1,7081	2,0595	2,3846	2,7874	3,0782
26	0,6840	1,1766	1,7056	2,0555	2,3788	2,7787	3,0669
27	0,6837	1,1757	1,7033	2,0518	2,3734	2,7707	3,0565
28	0,6834	1,1748	1,7011	2,0484	2,3685	2,7633	3,0469
29	0,6830	1,1739	1,6991	2,0452	2,3638	2,7564	3,0380
30	0,6828	1,1731	1,6973	2,0423	2,3596	2,7500	3,0298
40	0,6807	1,1673	1,6839	2,0211	2,3289	2,7045	2,9712
60	0,6762	1,1616	1,6707	2,0003	2,2991	2,6603	2,9146
120	0,6766	1,1559	1,6577	1,9799	2,2699	2,6174	2,8599
∞	0,6745	1,15030	1,6449	1,9600	2,2414	2,5758	2,8070

Tabela 35 – Distribuição F de Snedecor (P = 0,005)

v_2	v_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	647,8	799,5	864,2	899,6	921,8	937,1	948,2	956,7	963,3	968,6	976,7	984,9	993,1	
2	38,51	39,00	39,17	39,25	39,30	39,33	39,36	39,37	39,39	39,40	39,41	39,43	39,45	
3	17,44	16,04	15,44	15,10	14,88	14,73	14,62	14,54	14,47	14,42	14,34	14,25	14,17	
4	12,22	10,65	9,979	9,605	9,364	9,197	9,074	8,980	8,905	8,844	8,751	8,657	8,560	
5	10,01	8,434	7,764	7,388	7,146	6,978	6,853	6,757	6,681	6,619	6,525	6,428	6,329	
6	8,813	7,260	6,599	6,227	5,988	5,820	5,695	5,600	5,523	5,461	5,366	5,269	5,168	
7	8,073	6,542	5,890	5,523	5,285	5,119	4,995	4,899	4,823	4,761	4,666	4,568	4,467	
8	7,571	6,059	5,416	5,053	4,817	4,652	4,529	4,433	4,357	4,295	4,200	4,101	3,999	
9	7,209	5,715	5,078	4,718	4,484	4,320	4,197	4,102	4,026	3,964	3,868	3,769	3,667	
10	6,937	5,456	4,826	4,468	4,236	4,072	3,950	3,855	3,779	3,717	3,621	3,522	3,419	
11	6,724	5,256	4,630	4,275	4,044	3,881	3,759	3,664	3,588	3,526	3,430	3,330	3,226	
12	6,554	5,096	4,474	4,121	3,891	3,728	3,607	3,512	3,436	3,374	3,277	3,177	3,073	
13	6,414	4,965	4,347	3,996	3,767	3,604	3,483	3,388	3,312	3,250	3,153	3,053	2,948	
14	6,298	4,857	4,242	3,892	3,663	3,501	3,380	3,285	3,209	3,147	3,050	2,949	2,844	
15	6,200	4,765	4,153	3,804	3,576	3,415	3,293	3,199	3,123	3,060	2,963	2,862	2,756	
16	6,115	4,687	4,077	3,729	3,502	3,341	3,219	3,125	3,049	2,986	2,889	2,788	2,681	
17	6,042	4,619	4,011	3,665	3,438	3,277	3,156	3,061	2,985	2,922	2,825	2,723	2,616	
18	5,978	4,560	3,954	3,608	3,382	3,221	3,100	3,005	2,929	2,866	2,769	2,667	2,559	
19	5,922	4,508	3,903	3,559	3,333	3,172	3,051	2,956	2,880	2,817	2,720	2,617	2,509	
20	5,871	4,461	3,859	3,515	3,289	3,128	3,007	2,913	2,837	2,774	2,676	2,573	2,464	

v_1 = número de grau de liberdade do numerador e v_2 = número de grau de liberdade do denominador.

ANEXO 3 – Figuras dos Picos de Absorção

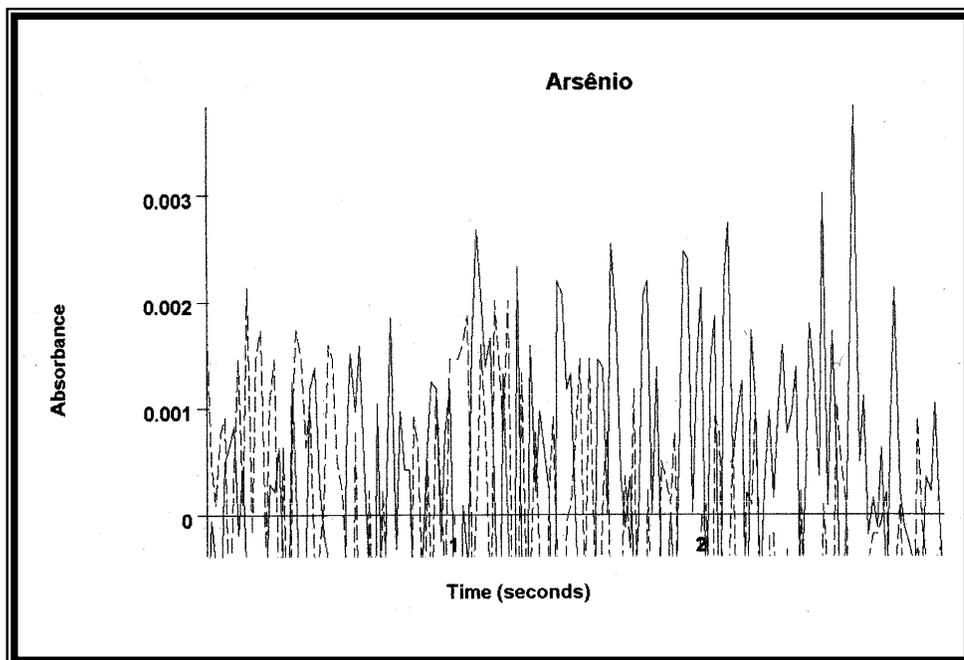


Figura 26 – Branco (0,02% de HNO_3)- $T_p = 800^\circ\text{C}$ e $T_a = 2300^\circ\text{C}$; volume de branco de $20 \mu\text{L}$ modificador; $3 \mu\text{g Mg(NO}_3)_2$ num volume final de $25 \mu\text{L}$.

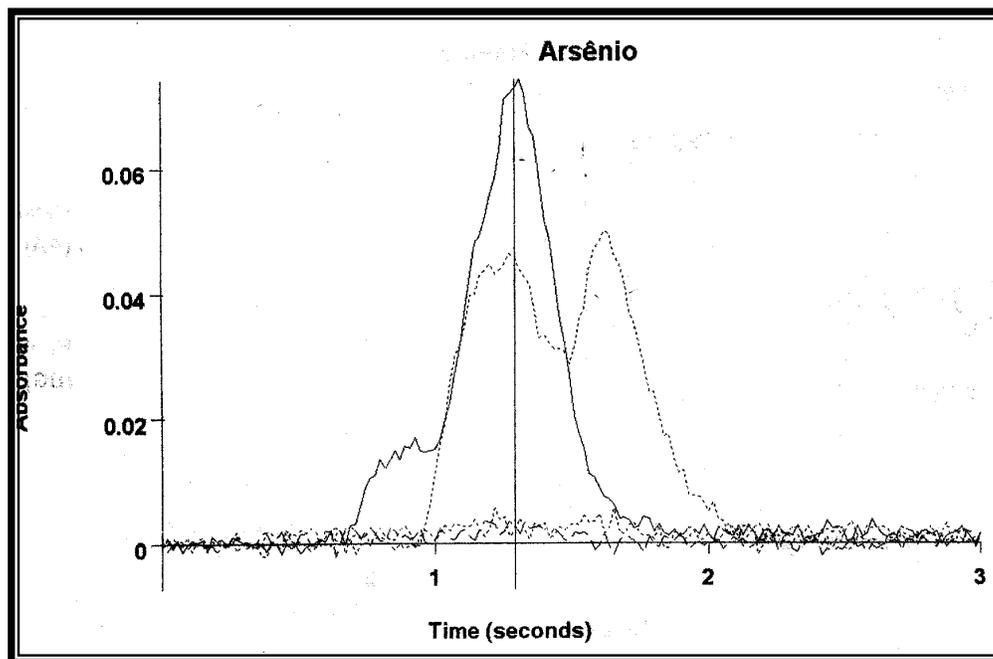


Figura 27 – Estudo da diferença de temperatura de pirólise na resolução dos picos para amostras de água - $T_p = 500^\circ\text{C}$ e $T_p = 800^\circ\text{C}$ – Temperatura de atomização = 2000°C ; concentração de As $10 \mu\text{g L}^{-1}$; volume de amostra de $20 \mu\text{L}$; modificador $3 \mu\text{g Mg(NO}_3)_2$ num volume final de $25 \mu\text{L}$.

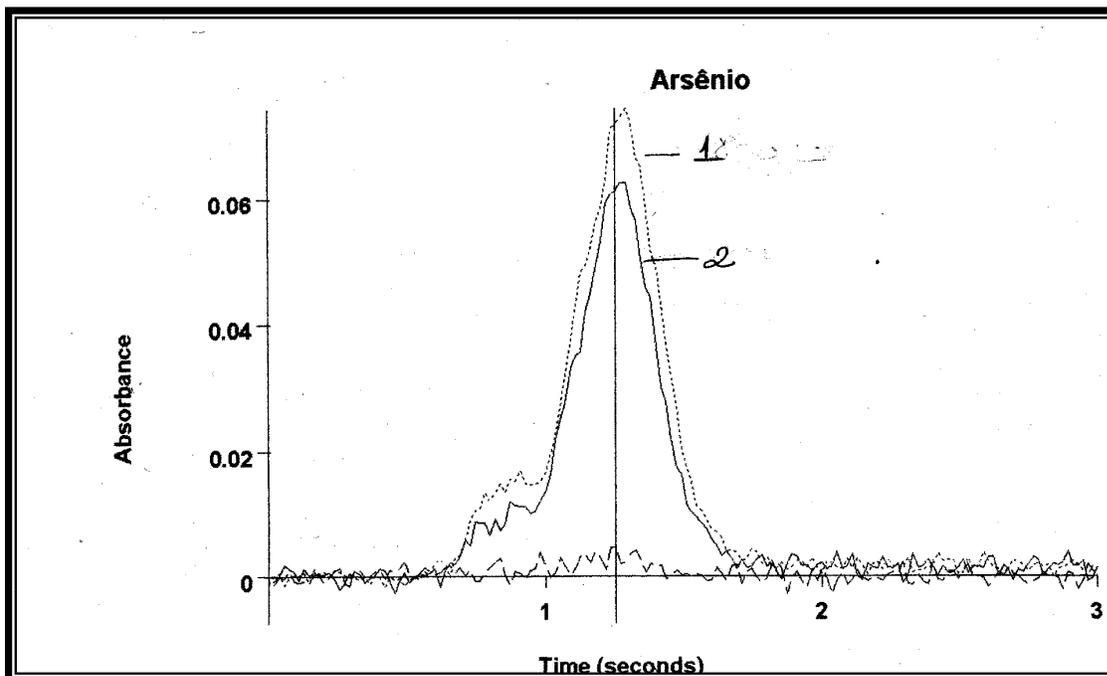


Figura 28 – Resolução dos picos durante o estudo da temperatura de pirólise para amostras de água: Seqüência 1- $T_p = 800^\circ\text{C}$, Seqüência 2 – $T_p = 900^\circ\text{C}$; Temperatura de atomização = 2000°C ; concentração de As $10 \mu\text{gL}^{-1}$; volume de amostra de $20 \mu\text{L}$; modificador $3 \mu\text{g Mg}(\text{NO}_3)_2$ num volume final de $25 \mu\text{L}$.

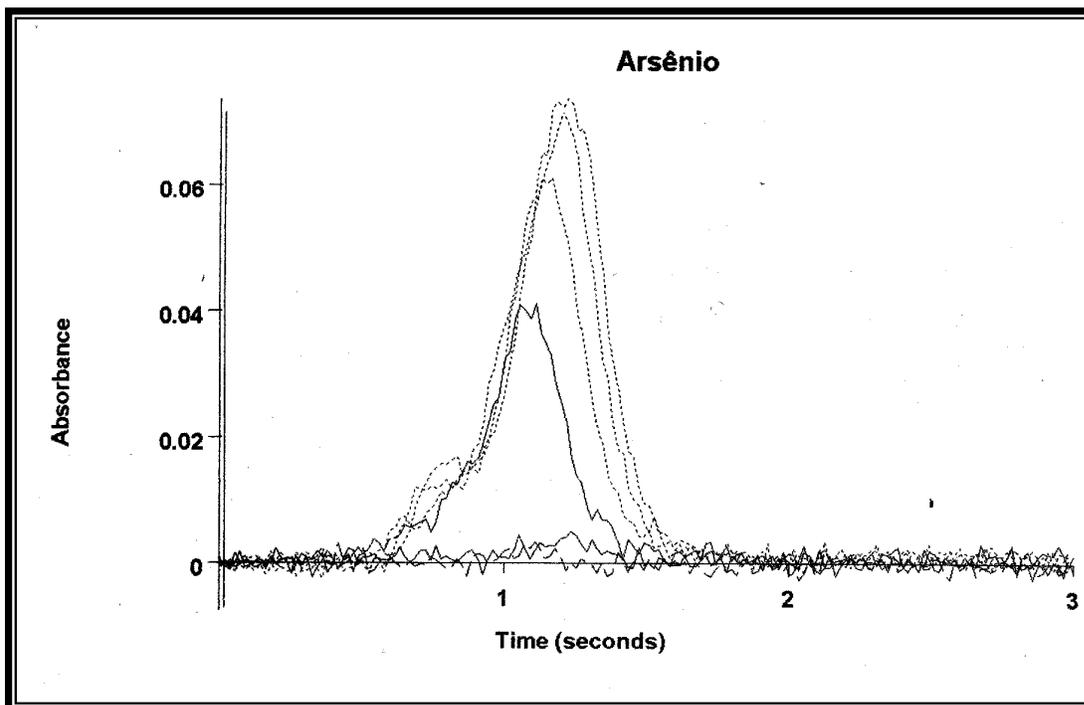


Figura 29 – Resolução dos picos de absorção durante o estudo da temperatura de pirólise para amostras de água: Pico maior $T_p = 800^\circ\text{C}$, Pico menor $T_p = 1200^\circ\text{C}$ -Temperatura de atomização = 2000°C ; concentração de As $10 \mu\text{gL}^{-1}$; volume de amostra de $20 \mu\text{L}$; modificador $3 \mu\text{g Mg}(\text{NO}_3)_2$ num volume final de $25 \mu\text{L}$.

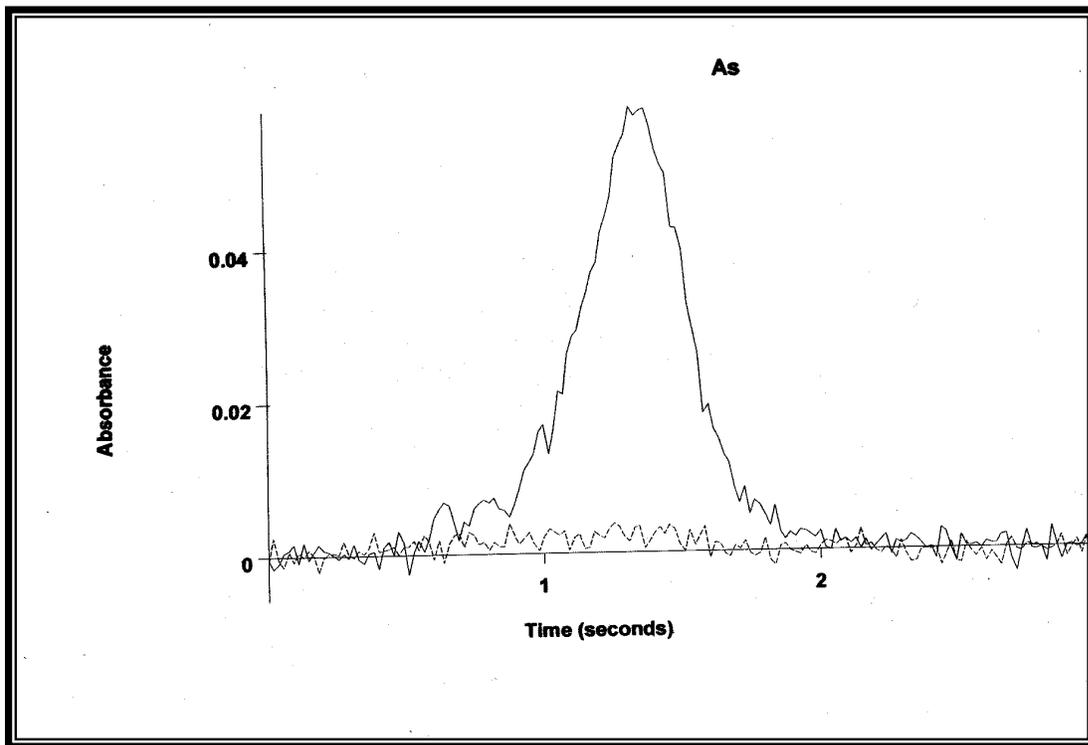


Figura 30 – Pico de absorção atômica para arsênio numa concentração de As $10 \mu\text{gL}^{-1}$ na temperatura ideal de pirólise de 800°C e $T_a = 2300^\circ\text{C}$ para amostras de água; volume de amostra de $20 \mu\text{L}$; modificador $3 \mu\text{g Mg}(\text{NO}_3)_2$ num volume final de $25 \mu\text{L}$

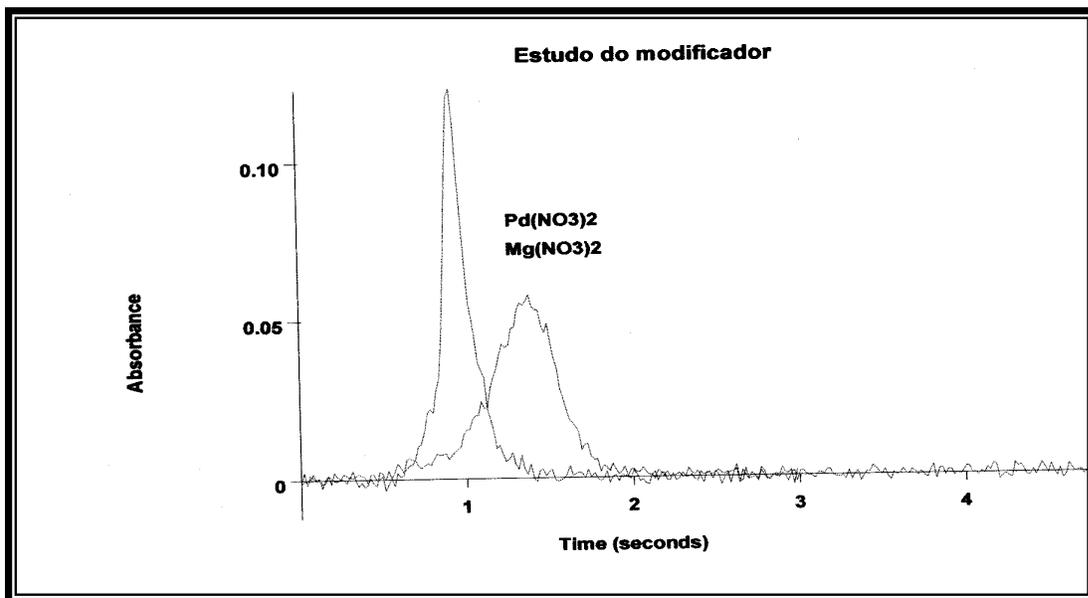


Figura 31 – Resolução dos picos de absorção para estudo do uso de diferentes modificadores: $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 = 5 \mu\text{g}$; $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 = 3 \mu\text{g}$ em amostras de alimento. - volume de amostra de $20 \mu\text{L}$; $T_p = 1000^\circ\text{C}$, $T_a = 2300^\circ\text{C}$.

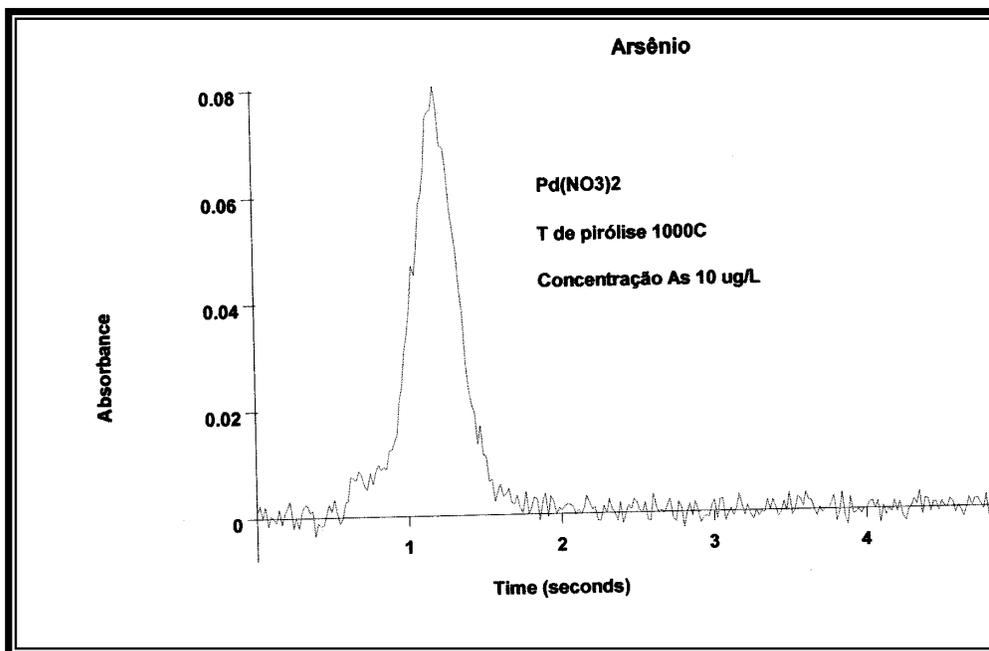


Figura 32 – Pico de absorção com $T_p = 1000^\circ\text{C}$, $T_a = 2300^\circ\text{C}$ e concentração ideal de modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 = 5\mu\text{g}$ para amostras de alimentos.

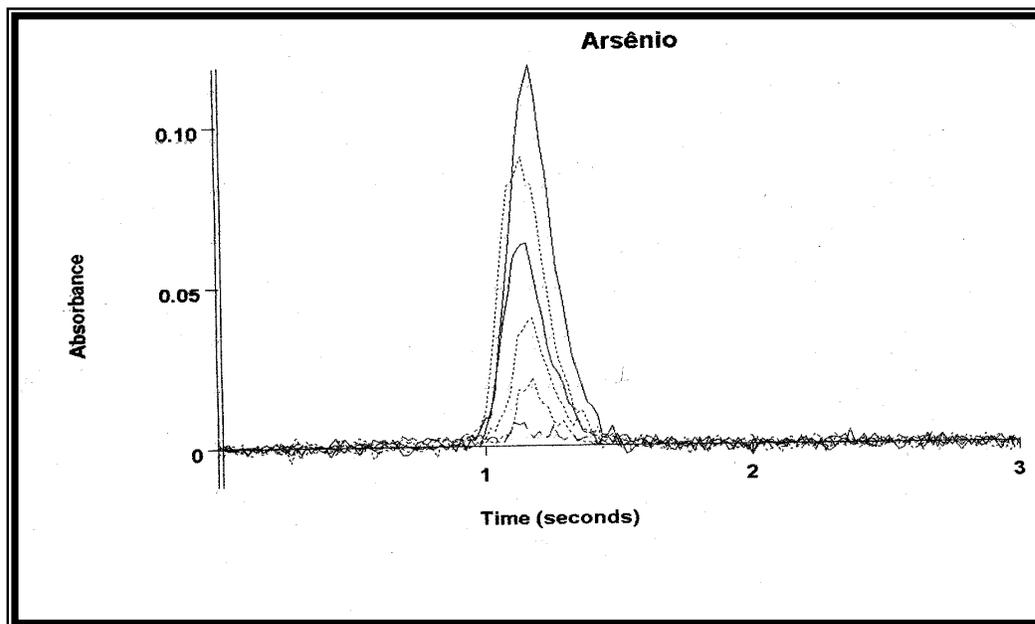


Figura 33 – Perfil dos picos de absorção de diferentes concentrações de As na confecção da curva de calibração para amostras de alimento (faixa de trabalho $1\mu\text{g L}^{-1}$ - $20\mu\text{g L}^{-1}$), $T_p = 1000^\circ\text{C}$ e $T_a = 2300^\circ\text{C}$.

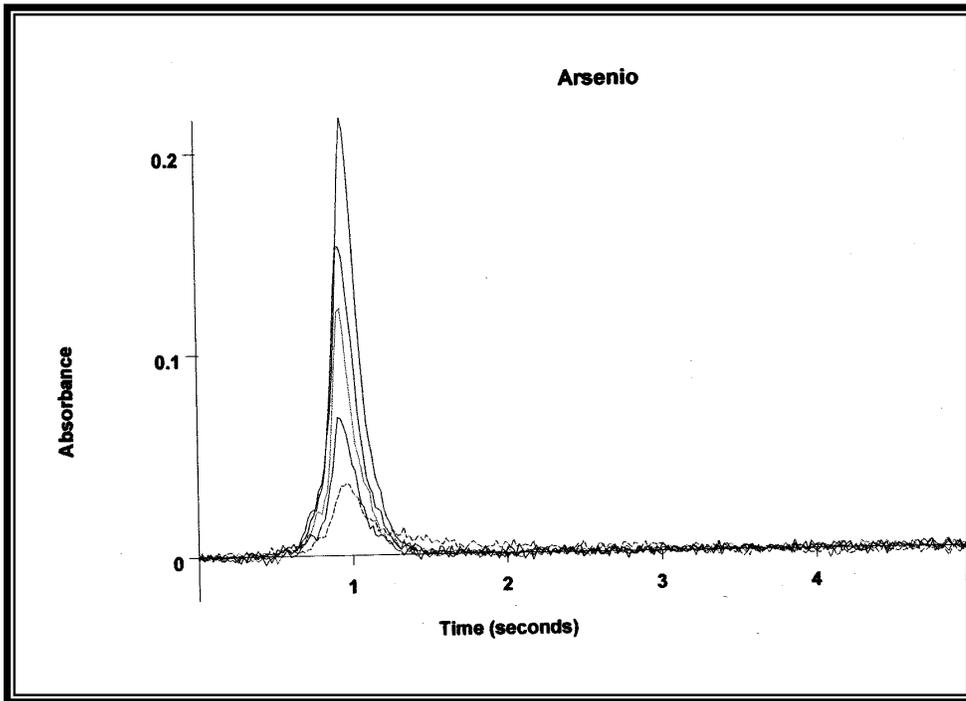


Figura 34 – Perfil dos picos de absorção de diferentes concentrações de As na confecção da curva de adição padrão para amostra de arroz (faixa de trabalho $1\mu\text{g L}^{-1}$ - $20\mu\text{g L}^{-1}$), $T_p = 1000^\circ\text{C}$ e $T_a = 2300^\circ\text{C}$.

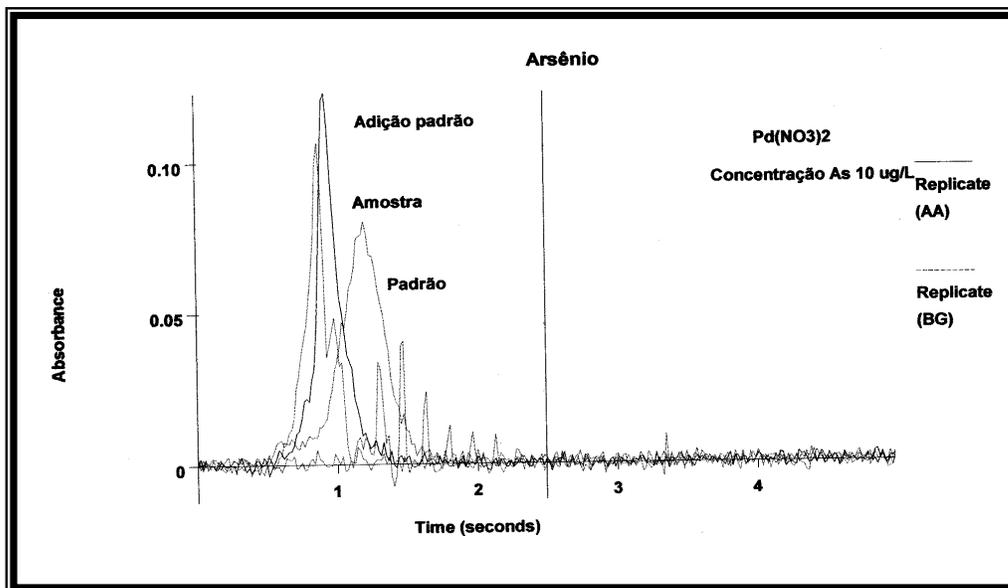


Figura 35 – Perfil dos picos de absorção de As em amostras de arroz na confecção da curva de adição padrão, na amostra de arroz e na curva de calibração, $T_p = 1000^\circ\text{C}$ e $T_a = 2300^\circ\text{C}$, modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 = 5\mu\text{g}$

ANEXO 4 – CURVAS DE CALIBRAÇÃO

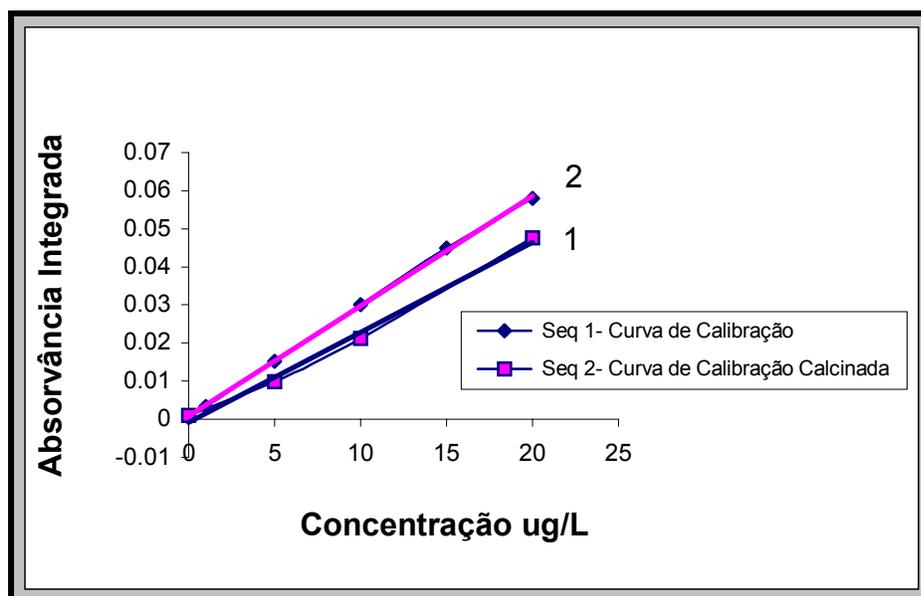


Figura 36 – Curvas de Calibração para alimento $T_p = 1000\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 2300\text{ }^\circ\text{C}$; volume de amostra $20\text{ }\mu\text{L}$, modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 = 5\text{ }\mu\text{g}$ e volume final de $25\text{ }\mu\text{L}$ no interior do forno de grafite.

AMOSTRAS – CAFÉ

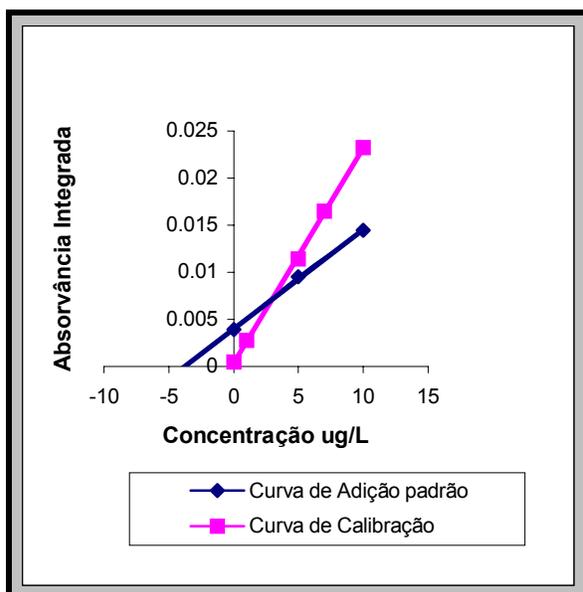


Figura 37 – Café – Melita

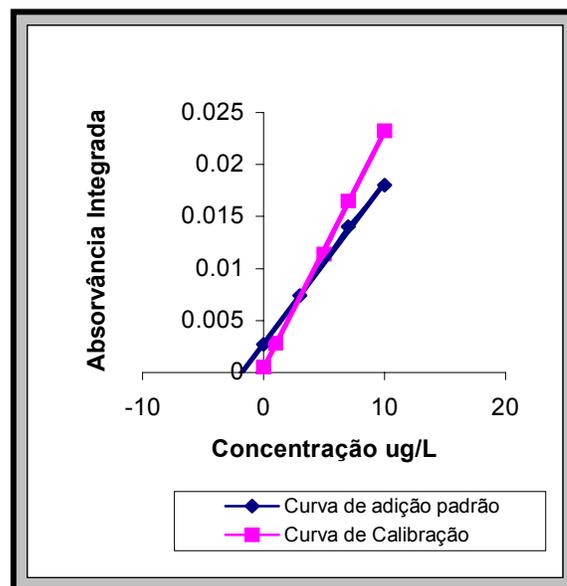


Figura 38 – Café Sendas

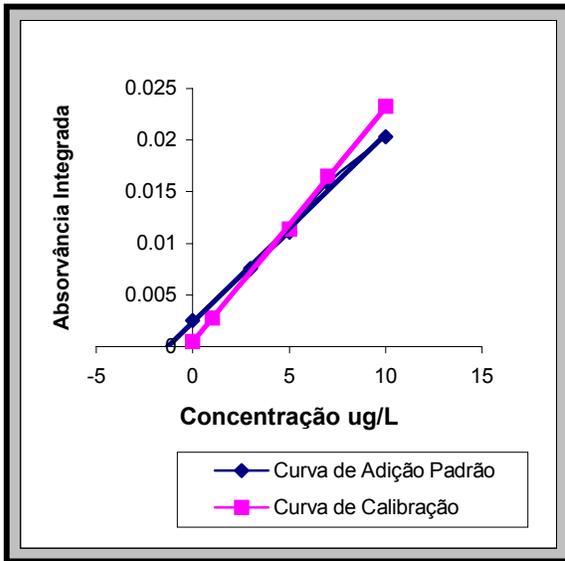


Figura 39 –Café União

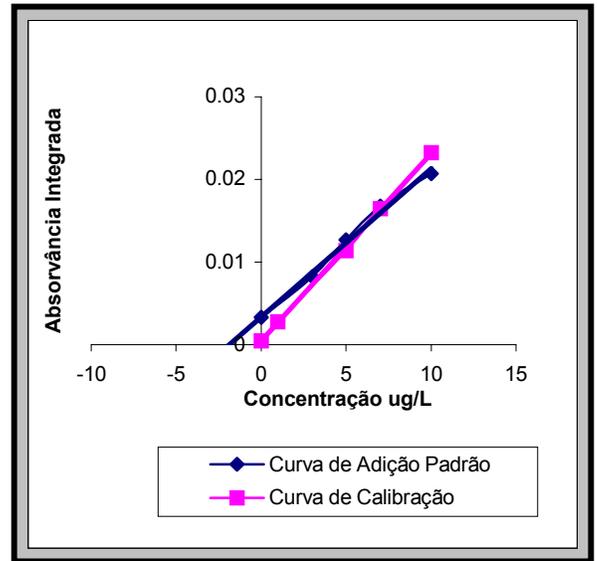


Figura 40 – Café Nescafé

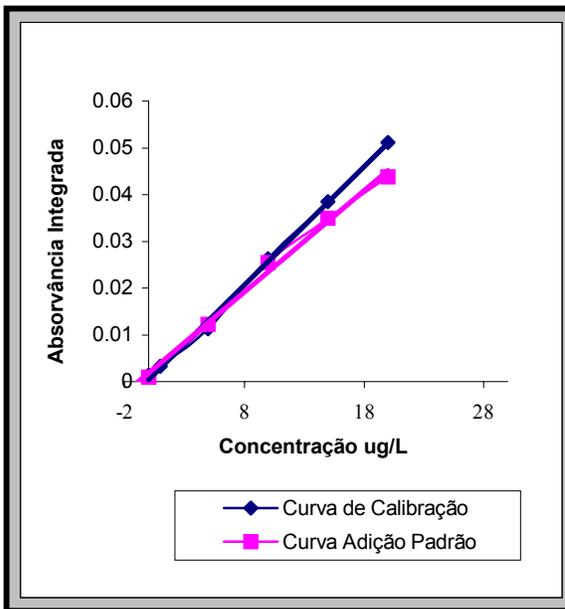


Figura 41 – Café Extra Clássico

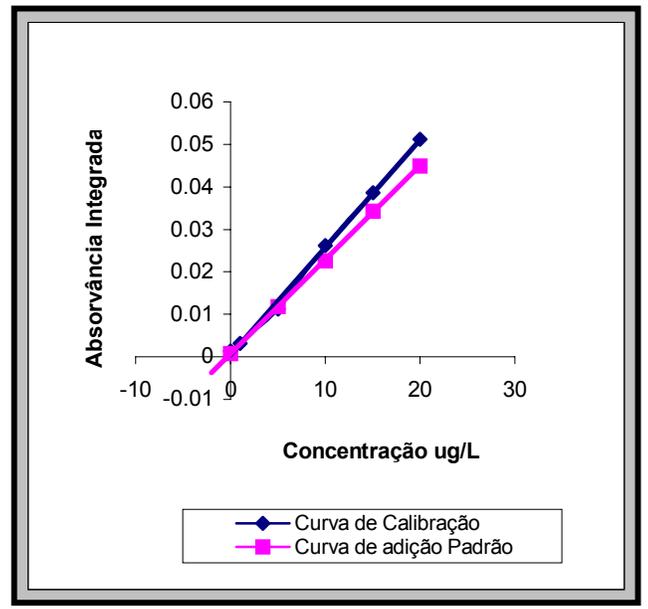


Figura 42- Café Extra Orgânico

AMOSTRAS – ARROZ

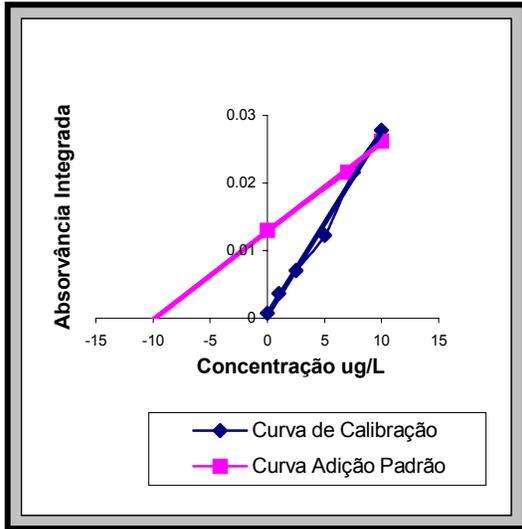


Figura 43 – Arroz Blue Ville

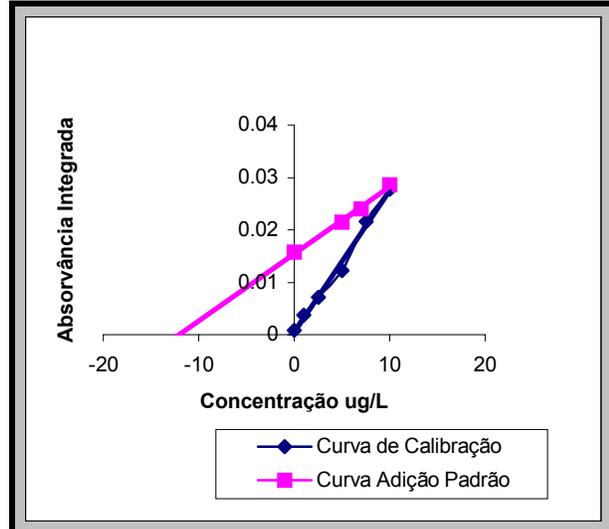


Figura 44 – Arroz Carreiro

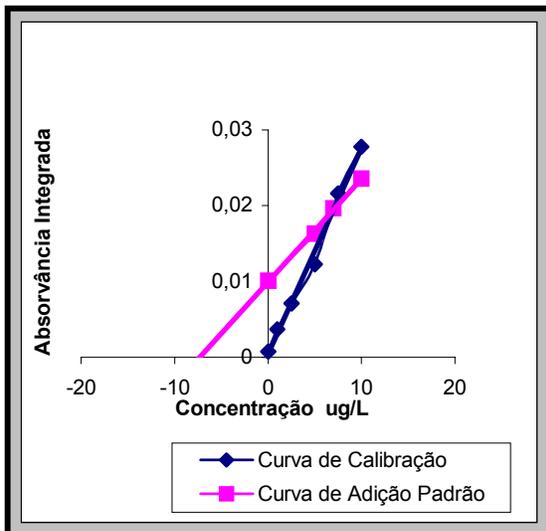


Figura 45 – Arroz U. Ben's

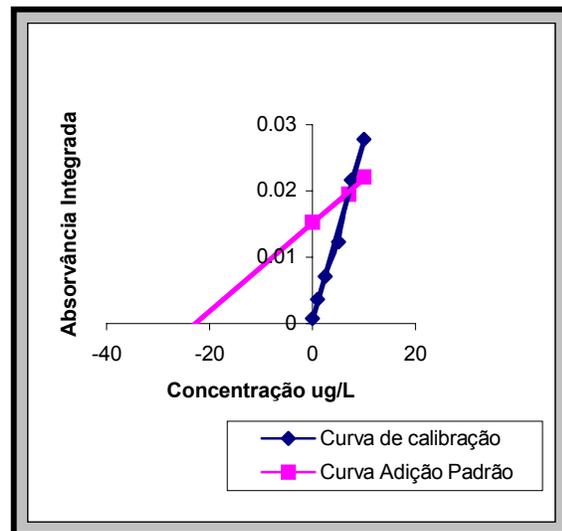


Figura 46 – Arroz U. Ben's Integral

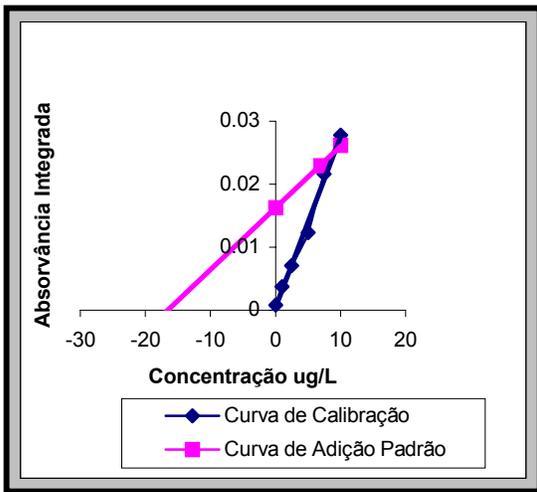


Figura 48 – Arroz Tio João Integral

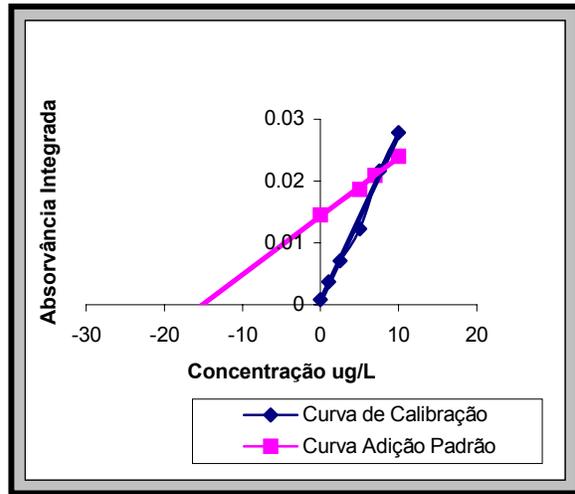


Figura 47 – Arroz Extra

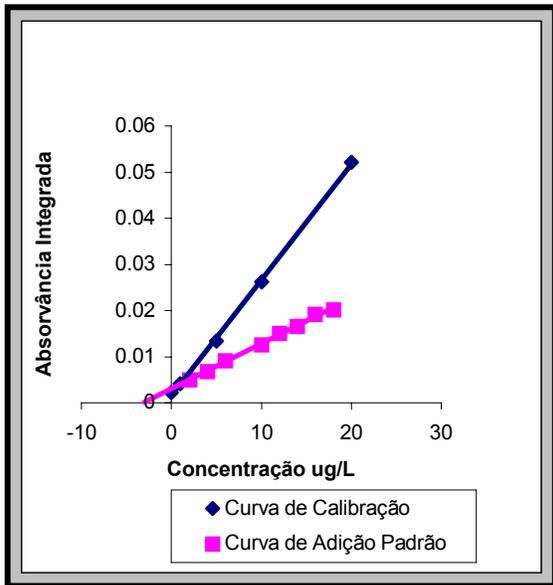


Figura 48 – Arroz Tio João

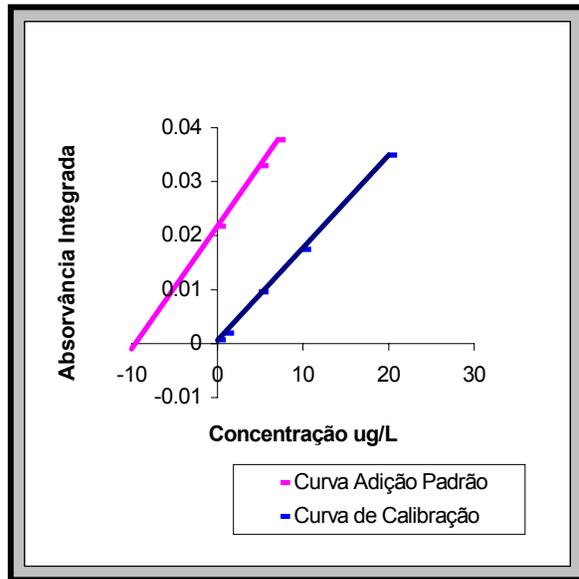


Figura 50 – Amostra de Referência (NIST – Rice flour)

AMOSTRAS – FEIJÃO

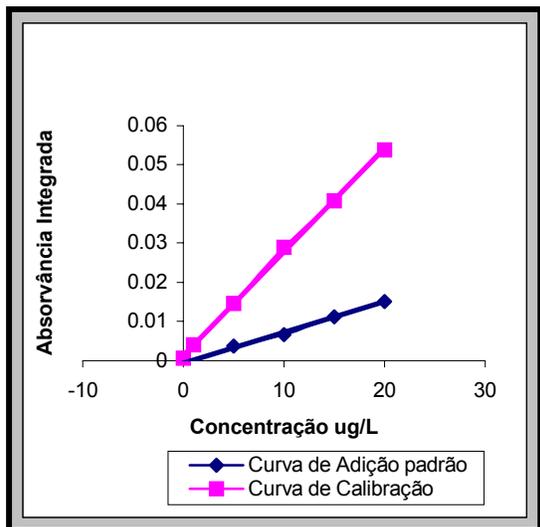


Figura 51- Feijão Carreteiro

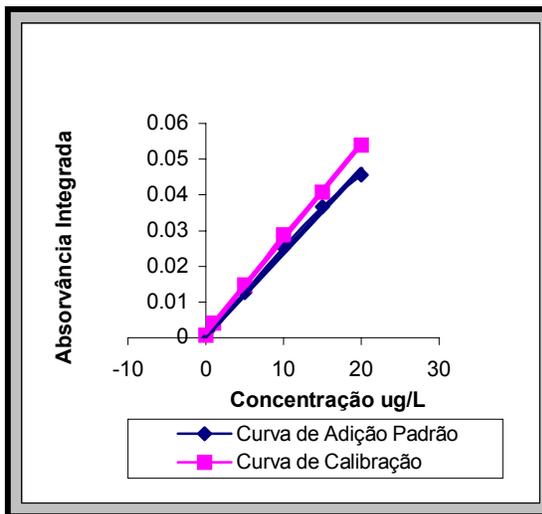


Figura 52 – Feijão Combrasil

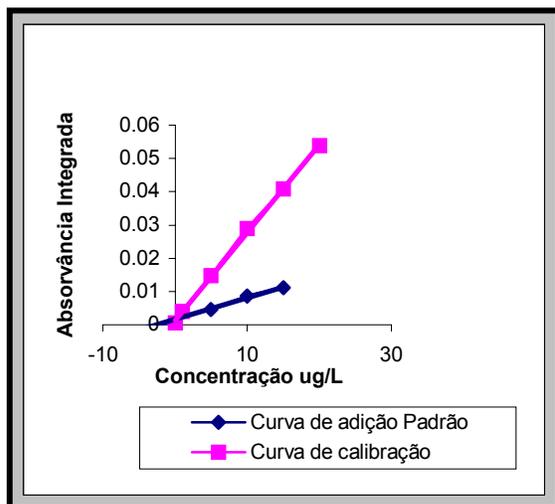


Figura 52 – Feijão Biju

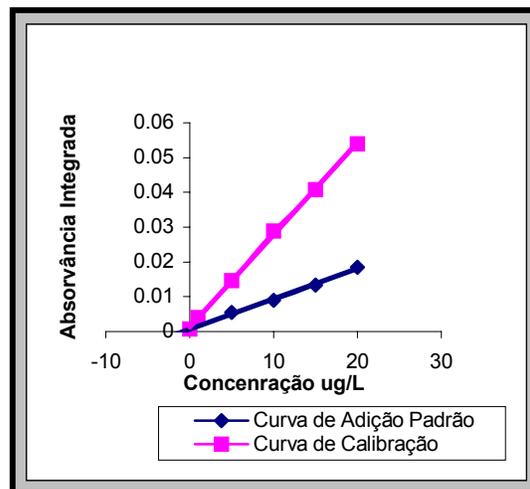


Figura 53 – Feijão Máximo

AMOSTRAS – AÇÚCAR

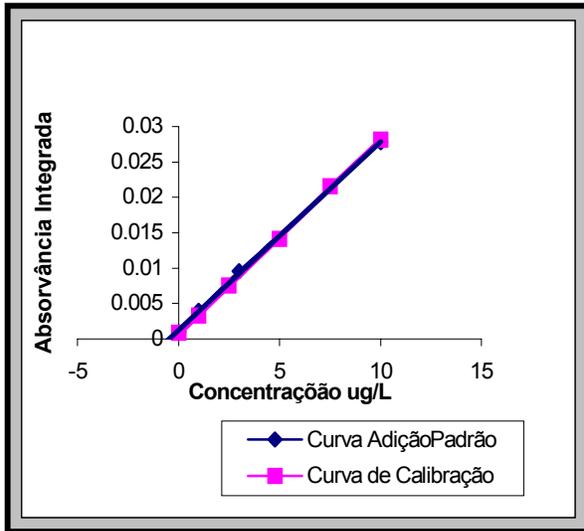


Figura 54 – Açúcar União

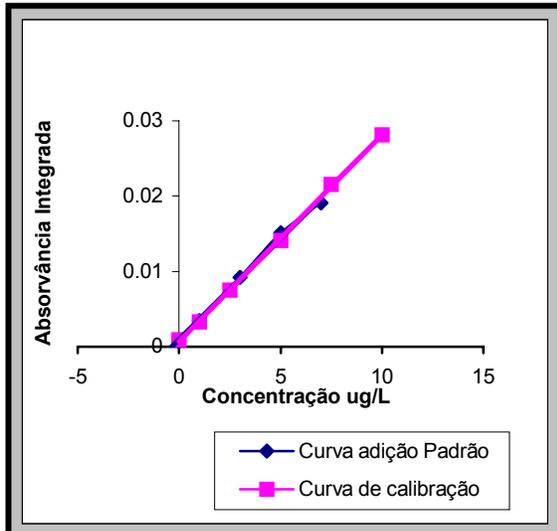


Figura 55 – Açúcar Extra (adoçante)

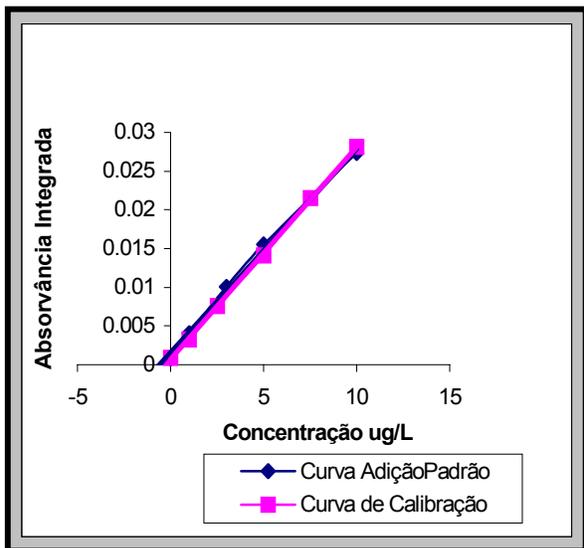


Figura 56 – Açúcar Extra (refinado)

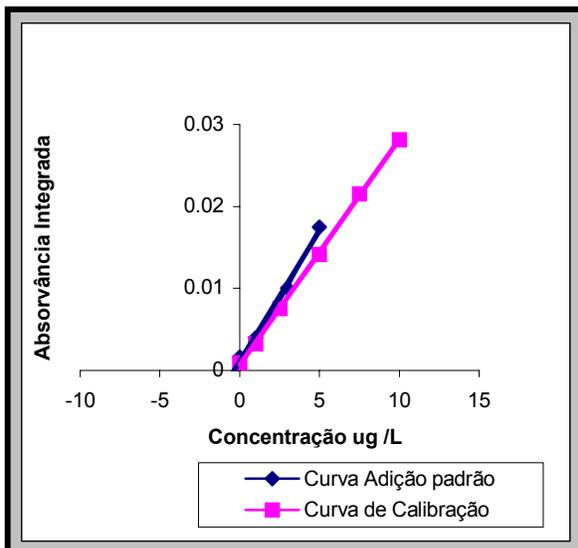


Figura 57 – Açúcar Amoroso

AMOSTRAS - TOMATE

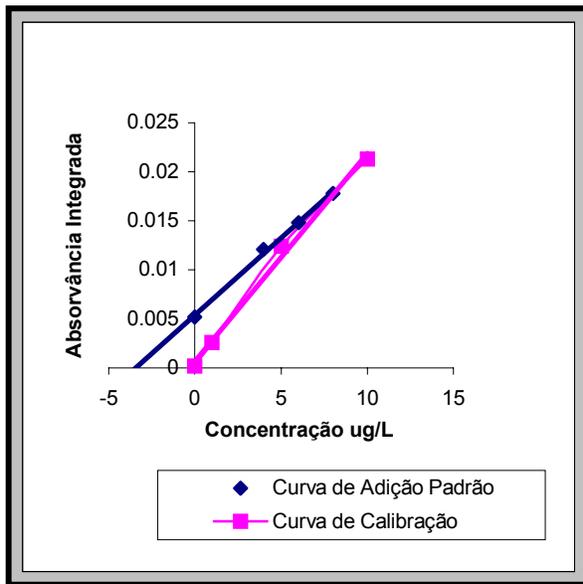


Figura 58 – Amostra de Tomate

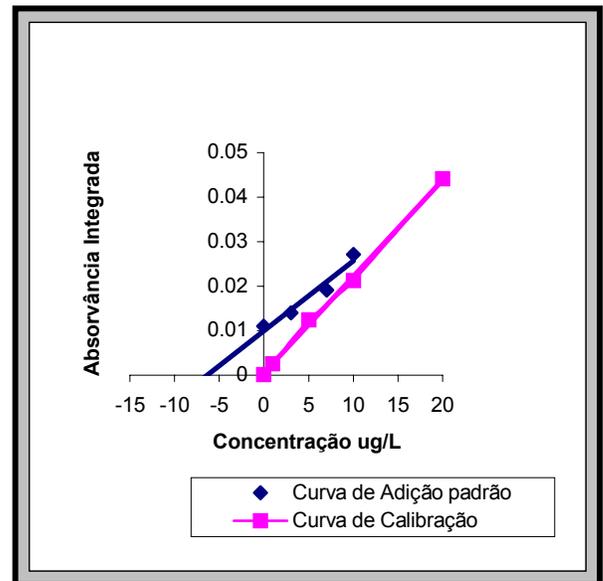


Figura 59 – Amostra de referência (NIST – Tomato leaves)

OBS: Todas as amostras foram feitas usando: volume de amostra 20 μ L , modificador Pd(NO₃)₂ = 5 μ L , T_p = 1000 °C e T_a = 2300 °C; Curva da adição padrão usando volume final de 5mL (1mL de amostra + uma concentração conhecida de arsênio e completa o volume com água até 5mL) as concentrações de arsênio para fazer a curva de adição padrão variaram conforme as concentrações encontradas nas amostras através da curva de calibração.

AMOSTRAS – SUCOS

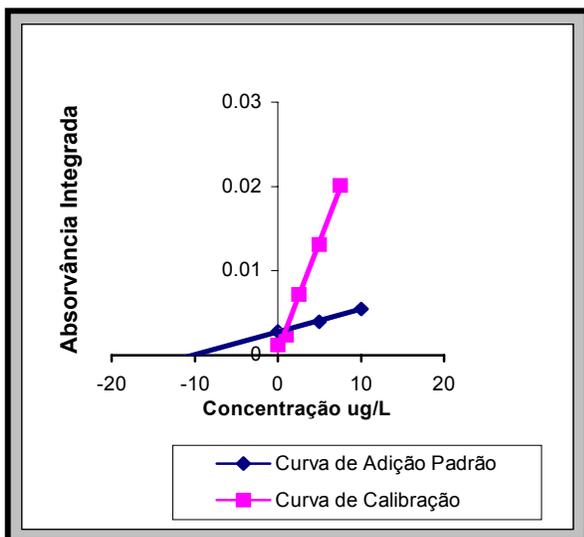


Figura 60 – Suco de Uva Maguary

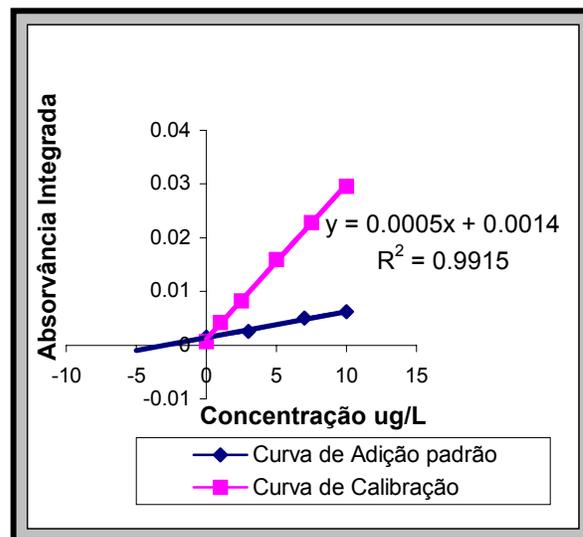


Figura 61- Suco de Laranja Ades

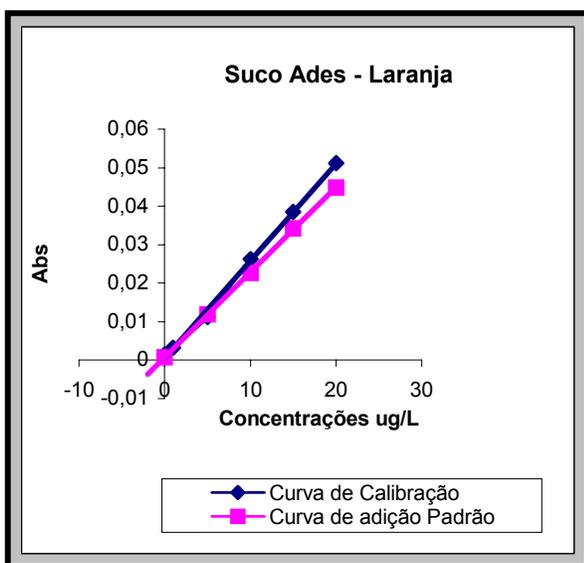


Figura 62 – Suco Ades Laranja

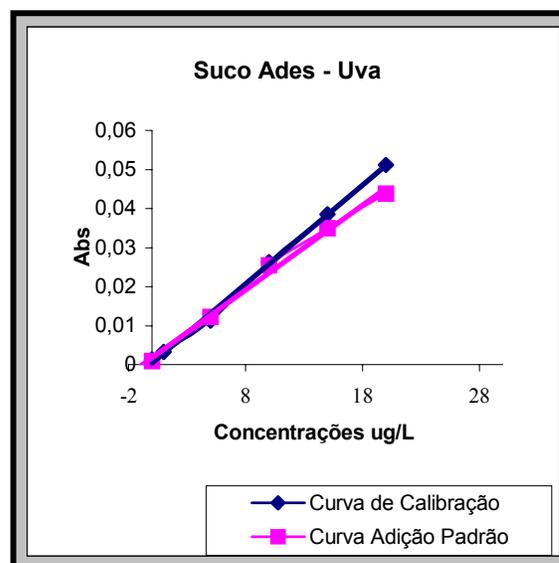


Figura 63- Suco Ades Uva

OBS – As Figuras 60 e 61 mostram o gráfico de adição padrão das amostras de sucos que não sofreram nenhum tipo de digestão as figuras 62 e 63 as amostras foram digeridas conforme o procedimento descrito no Capítulo 5 item 5.2. Todas as amostras foram feitas usando: volume de amostra 20µL , modificador Pd(NO3)2 = 5µL ,Tp = 1000 °C e Ta = 2300 °C; Curva da adição padrão usando volume final de 5mL (1mL de amostra + uma concentração conhecida de arsênio e completa o volume com água até 5mL) as concentrações de arsênio para fazer a curva de adição padrão variaram conforme as concentrações encontradas nas amostras através da curva de calibração.

