

**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS  
(CEFET-MG)**

**Brenda Palhares dos Reis Vieira**

**ESTUDO DE MODIFICADORES PARA A DETERMINAÇÃO DE As EM LEITE E  
DERIVADOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM  
ATOMIZAÇÃO EM FORNO DE GRAFITE EMPREGANDO AMOSTRAGEM EM  
SUSPENSÃO**

**Belo Horizonte (MG)**

**2020**

**Brenda Palhares dos Reis Vieira**

**ESTUDO DE MODIFICADORES PARA A DETERMINAÇÃO DE As EM LEITE E  
DERIVADOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM  
ATOMIZAÇÃO EM FORNO DE GRAFITE EMPREGANDO AMOSTRAGEM EM  
SUSPENSÃO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
como requisito parcial para a obtenção do título  
de Bacharel em Química Tecnológica.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Flávia Regina de  
Amorim.

**CEFET-MG**

**Belo Horizonte (MG)**

**2020**

**Brenda Palhares dos Reis Vieira**

**ESTUDO DE MODIFICADORES PARA A DETERMINAÇÃO DE As EM LEITE E  
DERIVADOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM  
ATOMIZAÇÃO EM FORNO DE GRAFITE EMPREGANDO AMOSTRAGEM EM  
SUSPENSÃO**

**Trabalho de conclusão de curso do Bacharelado em  
Química Tecnológica  
CEFET-MG**

**Belo Horizonte, 18 de novembro de 2020**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flávia Regina de Amorim  
(Orientadora – CEFET-MG)**

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Patrícia Sueli de Rezende  
(Avaliadora - CEFET-MG)**

**Prof. Msc. Reginaldo Ferreira de Oliveira  
(Avaliador – CEFET-MG)**

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela força que me foi dada para resistir e ajudar na conclusão da faculdade. A minha enorme gratidão.

À minha mãe, por ser um grande exemplo em minha vida e pelo imenso apoio e paciência, aos meus irmãos, irmãs, prima e a minha família pelo amparo dado durante minha graduação. Em especial, ao meu pai, que estaria imensamente feliz com a minha realização.

As minhas queridas amigas e amigos, agradeço pelo imenso carinho e apoio, sendo a motivação que precisei para continuar. Por estarem sempre presentes nos melhores e piores momentos, não importando as circunstâncias. Em especial, ao meu amigo, Matheus Henrique Resende de Castro, por me apoiar e não desistir de mim.

Ao meu companheiro, Ademir Santos Leal, pelo enorme amor, paciência e apoio em todos os momentos, por me tranquilizar em momentos de crise.

À minha maravilhosa orientadora, professora Dra. Flávia Regina de Amorim, por todo o carinho, compreensão e empenho em me instruir no desenvolvimento de meu projeto, e sempre disposta a ajudar e colaborar para o aperfeiçoamento da minha formação.

As minhas professoras e professores, por serem tão dedicados em suas profissões, e contribuir para a minha formação acadêmica e pessoal.

Ao CEFET-MG e seus todos os seus colaboradores por me oferecer uma educação superior de qualidade e oportunidade de crescimento profissional, e a minha segunda casa por um tempo.

Ao GMO Centro de Pesquisas e Controle de Qualidade, por ceder seu tempo, equipamento e as amostras, que por sua vez permitiram o desenvolvimento da pesquisa.

A todos que, passaram pela minha vida me proporcionado alegrias e novos conhecimentos, pessoais e acadêmicos.

## RESUMO

### **VIEIRA, B. P. R.; AMORIM, F. R. Estudo de modificadores para a determinação de As em alimentos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite empregando amostragem em suspensão**

As contaminações provenientes do uso de pesticidas ou por ações de mineradoras, durante a produção de alimentos de origem animal, podem torná-los potenciais fontes de transmissão de elementos consideravelmente tóxicos aos seres humanos, como o arsênio. A quantificação destes contaminantes, em águas superficiais e matrizes alimentícias, auxilia no monitoramento à exposição. A determinação de arsênio frequentemente realiza-se pela espectrometria de absorção atômica com a geração de hidretos (HG AAS), que, muitas vezes, necessita de um preparo de amostra trabalhoso, demorado e altas chances de contaminação, no geral. O uso de uma técnica mais acessível e sensível, principalmente com pré-tratamento simplificado, permitiria uma melhoria da análise em tempo reduzido. A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) quantifica metais e metaloides em nível de traços, com alta exatidão e precisão. O emprego de modificadores químicos na GF AAS contribui para estabilização térmica do arsênio em matrizes mais complexas, possibilitando análises de traços e ultra traços. Logo, a escolha do modificador químico adequado é um fator muito importante para a análise. O método de análise direta e por suspensão com uso de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) apresenta-se bem difundido na GF AAS, o qual permite um preparo de amostra rápido, simples e com redução de contaminações. Efetuou-se o estudo de modificação química permanente (Ir, Ir + Rh, Pd, Rh, Ru, W e Zr), por coinjeção (Ir, Pd e Rh) e sem modificação, para determinação de um modificador químico mais satisfatório para alimentos derivados do leite, como: doce de leite, leite em pó integral, leite fluido integral, queijo frescal e queijo muçarela, para a quantificação de arsênio diretamente ou por meio de suspensão via GF AAS. A avaliação dos valores obtidos de absorvância integrada, *background*, desvio padrão relativo, pico de absorção e a massa característica demonstraram que o modificador por coinjeção de paládio como o mais satisfatório para as amostras dos alimentos investigados. O estudo demonstrou resultados excelentes na aplicação de análise por suspensão, com solubilização em meio alcalino (TMAH). Assim, o modificador determinado para as matrizes alimentícias, apresenta-se apto para estudos posteriores para as fases de otimização de parâmetros, validação do método e aplicação em laboratórios de grande escala.

**Palavras-chave:** Modificação química. GF AAS. Arsênio. Alimentos. Produtos lácteos. Análise em suspensão. Análise direta.

## ABSTRACT

**VIEIRA, B. P. R.; AMORIM, F. R. Study of modifiers for the determination of As in foods by atomic absorption spectrometry with atomization in a graphite oven using suspension sampling**

Contamination from the use of pesticides or by mining companies, during the production of food of animal origin, can make them potential sources of transmission of elements that are considerably toxic to humans, such as arsenic. The quantification of these contaminants, in surface waters and food matrices, helps to monitor exposure. The determination of arsenic is often performed by atomic absorption spectrometry with the generation of hydrides (HG AAS), which often requires laborious, time-consuming sample preparation and high chances of contamination. The use of a more accessible and sensitive technique, mainly with simplified pre-treatment, would allow an improvement of the analysis in a reduced time. The graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) quantifies metals and metalloids at trace levels, with high accuracy and precision. The use of chemical modifiers in GF AAS contributes to thermal stabilization of arsenic in more complex matrices, enabling trace and ultra trace analysis. Therefore, the choice of the appropriate chemical modifier is a very important factor for the analysis. The method of direct and suspension analysis using tetramethylammonium hydroxide (TMAH) is well known in GF AAS, which allows for a quick, simple sample preparation with reduced contamination. The study of permanent chemical modification (Ir, Ir + Rh, Pd, Rh, Ru, W and Zr) was carried out, by coinjection (Ir, Pd and Rh) and without modification, to determine a more satisfactory chemical modifier for foods derived from milk, such as: dulce de leche, whole milk powder, whole fluid milk, fresh cheese and mozzarella cheese, for the quantification of arsenic directly or through suspension via GF AAS. The evaluation of the values obtained for integrated absorbance, background, relative standard deviation, peak absorption and the characteristic mass showed that the palladium co-injection modifier was the most satisfactory for the food samples investigated. The study demonstrated excellent results in the application of suspension analysis, with solubilization in alkaline medium (TMAH). Thus, the modifier determined for food matrices, is suitable for further studies for the phases of parameter optimization, method validation and application in large-scale laboratories.

**Palavras-chave:** Chemical modification. GF AAS. Arsenic. Foods. Dairy products. Suspended analysis. Direct analysis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação gráfica da absorvância e <i>background</i> obtidos com análise via GF AAS para a matriz de doce de leite fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina.....	26
Figura 2 – Representação gráfica da absorvância e <i>background</i> obtidos com análise direta via GF AAS para a matriz de doce de leite fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) .....	26
Figura 3 – Estudo da precisão (através do desvio padrão relativo) de diferentes modificadores para quantificação de As em doce de leite fortificado com $45 \mu\text{g L}^{-1}$ em meio alcalino (TMAH) .....	27
Figura 4 - Estudo da precisão (através do desvio padrão relativo) de diferentes modificadores para quantificação de As em doce de leite fortificado com $45 \mu\text{g L}^{-1}$ em meio aquoso.....	28
Figura 5 – Picos da absorvância integrada obtidos via GF AAS pela leitura da matriz de doce de leite fortificado ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina.....	29
Figura 6 - Picos da absorvância integrada vs tempo obtidos via GF AAS pela leitura de amostra preparada para análise direta de doce de leite fortificado ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ).....	29
Figura 7 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para os estudos para a quantificação de As por amostragem em suspensão (solubilização alcalina) da matriz de doce de leite via GF AAS .....	30
Figura 8 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para os estudos para a quantificação de As por análise direta da matriz de doce de leite via GF AAS .....	30
Figura 9 - Representação gráfica da absorvância e <i>background</i> obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina .....	34
Figura 10 - Representação gráfica da absorvância e <i>background</i> obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ).....	35
Figura 11 - Valores de desvio padrão relativo para cada modificador estudado para uso em GF AAS na quantificação de As para matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina.....	36

Figura 12 - Valores de desvio padrão relativo para cada modificador estudado para uso em GF AAS na quantificação de As para matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada para análise direta .....	36
Figura 13 - Picos da absorção obtidos nos estudos de modificadores para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina.....	37
Figura 14 - Picos da absorção obtidos nos estudos de modificadores para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada para a análise direta .....	37
Figura 15 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para a suspensão alcalina da matriz de leite fluido integral para a quantificação de As via GF AAS .....	38
Figura 16 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para a matriz de leite fluido integral preparada para análise direta para a quantificação de As via GF AAS ....	38
Figura 17 - Representação gráfica da absorbância e <i>background</i> obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina .....	42
Figura 18 - Representação gráfica da absorbância e <i>background</i> obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada para a análise direta .....	43
Figura 19 – Valores de desvio padrão relativo de cada modificador estudado para uso em GF AAS na quantificação de As para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada como uma suspensão alcalina .....	44
Figura 20 – Valores de desvio padrão relativo de cada modificador estudado para uso em GF AAS na quantificação de As para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada para análise direta .....	44
Figura 21 - Picos de absorção obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS em leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparado como uma suspensão alcalina.....	45
Figura 22 - Picos de absorção obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS em leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparado para análise direta .....	45



Figura 23 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para a matriz de leite em pó integral preparado como uma suspensão alcalina para a quantificação de As via GF AAS .....	46
Figura 24 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para a matriz de leite em pó integral preparado para análise direta para a quantificação de As via GF AAS....	46
Figura 25 - Representação gráfica da absorbância e <i>background</i> obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de queijo frescal fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina .....	49
Figura 26 - Valores de desvio padrão relativo de cada modificador estudado para uso em GF AAS da matriz de queijo frescal fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina .....	49
Figura 27 - Picos da absorção obtidos nos estudos de modificadores para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de queijo frescal fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina ....	50
Figura 28 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para a matriz de queijo frescal em suspensão alcalina via GF AAS .....	51
Figura 29 - Representação gráfica da absorbância e <i>background</i> obtidos nos estudos de modificadores para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de queijo muçarela fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina .....	53
Figura 30 - Valores de desvio padrão relativo de cada modificador estudado para uso em via GF AAS na quantificação de As em queijo muçarela fortificado ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina.....	54
Figura 31 - Picos da absorção obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de queijo muçarela fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina	54
Figura 32 - Representação gráfica da massa característica de As de cada modificador para a matriz de queijo muçarela em suspensão alcalina via GF AAS .....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Programa de temperatura empregado para recobrimento dos tubos de grafite .....	16
Tabela 2 - Condições experimentais recomendadas pelo fabricante e empregadas nos estudos de escolha de modificador para a determinação de As por GF AAS. ....	18
Tabela 3 – Programa de temperatura empregado para estudo dos modificadores .....	19
Tabela 4 – Emprego dos modificadores químicos por coinjeção para estudo .....	20
Tabela 5- Valores de absorvância integrada, <i>background</i> e desvio padrão relativo via GF AAS para a matriz de doce de leite fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina.....	24
Tabela 6 - Valores de absorvância integrada, <i>background</i> e desvio padrão relativo pela análise direta via GF AAS para a matriz de doce de leite fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) .....	25
Tabela 7 - Valores de absorvância integrada, <i>background</i> e desvio padrão relativo via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina .....	32
Tabela 8 - Valores de absorvância integrada, <i>background</i> e desvio padrão relativo pela análise direta via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ).....	33
Tabela 9 - Valores de absorvância integrada, <i>background</i> e desvio padrão relativo via GF AAS para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina.....	40
Tabela 10 - Valores de absorvância integrada, <i>background</i> e desvio padrão relativo para o preparo da análise direta via GF AAS para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) .....	41
Tabela 11 - Valores de absorvância integrada, <i>background</i> e desvio padrão relativo via GF AAS para a matriz de queijo frescal fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão.....	48
Tabela 12 - Valores de absorvância integrada, <i>background</i> e desvio padrão relativo via GF AAS para a matriz de queijo muçarela fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão.....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica (do inglês, <i>Atomic Absorption Spectrometry</i> )
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<i>Apud</i>	citado por (do latim)
ATSDR	Agência para Substâncias Tóxicas e Registros de Doenças (do inglês, <i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i> )
BG	<i>Background</i>
CRM	Materiais de referência certificados (CRM, no inglês <i>certified reference materials</i> )
DPR	Desvio padrão relativo
ET AAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (do inglês, <i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i> )
<i>Et al.</i>	e outros (do latim, <i>et alli</i> )
FG AAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (do inglês, <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i> )
HG AAS	Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (do inglês, <i>Hydride generation atomic absorption spectrometry</i> )
HPLC ICP - MS	Cromatografia líquida de alta eficiência com espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplada (do inglês, <i>high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma-mass spectrometer</i> )
HR-CS GF AAS	Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com atomização em forno de grafite (do inglês, <i>High resolution continuum source atomic absorption spectrometry</i> )
HR GF AAS	Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com atomização em forno de grafite (do inglês, <i>High Resolution Atomic Absorption Spectrometry</i> )
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> )

ICP - MS	Espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> )
LHGA	Atomizador de grafite aquecido longitudinalmente (do inglês, <i>longitudinally heated graphite atomizer-</i> )
MGP	Metais do grupo da platina (do inglês, <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i> )
M <sub>o</sub>	Massa característica
OMS	Organização Mundial da Saúde (WHO, do inglês, <i>World Health Organization</i> )
STPF	Forno plataforma com temperatura estabilizada (do inglês, <i>Stabilized Temperature Platform Furnace</i> )
THGA	Atomizador de grafite aquecido transversalmente (do inglês, <i>transversally heated graphite atomizer</i> )
TMAH	Hidróxido de tetrametilamônio
TPG	Tubo de grafite pirolítico

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<i>Modificadores químicos</i>	<b>3</b>
<b>2.2</b>	<i>Contaminantes em alimentos</i>	<b>6</b>
<b>2.3</b>	<i>Quantificação de arsênio em alimentos</i>	<b>8</b>
<b>2.4</b>	<i>Análise em suspensão e determinação direta</i>	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>15</b>
<b>3.1</b>	<i>Instrumentação, acessórios e vidrarias</i>	<b>15</b>
<b>3.2</b>	<i>Reagentes e materiais certificados</i>	<b>15</b>
<b>3.3</b>	<i>Recobrimento dos tubos de grafite com modificadores permanentes</i>	<b>16</b>
<b>3.4</b>	<i>Descrição e preparo das amostras</i>	<b>17</b>
<b>3.3.1</b>	<i>Análise em suspensão</i>	<b>17</b>
<b>3.3.2</b>	<i>Análise direta</i>	<b>17</b>
<b>3.5</b>	<i>Escolha dos modificadores</i>	<b>18</b>
<b>3.6</b>	<i>Critérios de avaliação</i>	<b>20</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>22</b>
<b>4.1</b>	<i>Doce de leite</i>	<b>23</b>
<b>4.2</b>	<i>Leite fluido integral</i>	<b>31</b>
<b>4.3</b>	<i>Leite em pó integral</i>	<b>39</b>
<b>4.4</b>	<i>Queijo frescal</i>	<b>47</b>
<b>4.5</b>	<i>Queijo muçarela</i>	<b>51</b>
<b>4.6</b>	<i>Padronização do modificador químico e do método de preparação para as matrizes</i>	<b>55</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>58</b>

**REFERÊNCIAS** \_\_\_\_\_ 59

## 1 INTRODUÇÃO

Alguns contaminantes estão inerentes aos alimentos, devido a variados procedimentos, por fatores externos ou pelo meio ambiente em que estão, ao longo das etapas de produção. Os alimentos de origem animal contêm alguns contaminantes como antibióticos, hormônios, microrganismos patogênicos, pesticidas e inorgânicos oriundos de tratamentos dos animais da qual origina o produto ou fatores externos a estes (RAZA; KIM, 2018; WELSH et al., 2019).

O emprego de pesticidas e a mineração são exemplos de ações degradantes ao meio ambiente, que por sua vez são considerados fontes de contaminação de arsênio, quando associados ao uso de metanoarseniato ácido monossódico (MSMA) e extração de ouro com arsenopirita. A presença dos compostos de arsênio culmina na propagação para o solo e recursos hídricos, na qual atinge conseqüentemente os animais e seres humanos próximos. A contaminação por arsênio (As) atinge diversos países, como Argentina; Bangladesh, Brasil, Estados Unidos da América, México, entre outros; assim uma questão global (ISMAEL; ROCHA, 2019; LOPES *et al.*, 2020; MIHUCZ *et al.*, 2017; NG *et al.*, 2019; VELOSO *et al.*, 2019; WHO, 2018).

O arsênio apresenta-se nas formas inorgânica e orgânica, sendo proveniente da transmissão pelo meio ambiente, mineração, processos industriais e pesticidas (LOPES *et al.*, 2020). Considerado uma das dez substâncias mais preocupantes para a saúde pública, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo um elemento neurotóxico e carcinogênico, este exibe diferentes patologias pela variação de exposição (ATSDR, 2016; WANG et al., 2019; WHO, 2018; YU; LEE; CHEN, 2002).

Assim, é imprescindível a quantificação deste em diversas matrizes, para o monitoramento. A Resolução (RDC) de nº 42 de 29 agosto de 2013 publicada pela Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária determina o limite máximo permitido de contaminantes inorgânicos (arsênio, cádmio, chumbo, mercúrio e estanho) em diferentes alimentos, como os alimentos de origem animal (ANVISA, 2013).

A determinação de As comumente ocorre por espectrometria de absorção atômica com gerador de hidretos (HG AAS), sendo de alta sensibilidade, precisão e considerável acessibilidade. Para a quantificação em alimentos principalmente, a técnica apresenta para a maioria das matrizes um trabalhoso e demorado preparo de amostra, sendo necessário o uso de grandes volumes de reagentes, padrões específicos, amostras e outros equipamentos. Isto gera

um aumento das fontes de possíveis contaminações ao longo do processo, além do custo e tempo gastos, uma vez que são fatores importantes para laboratórios com altas demandas de amostras (FIAMEGKOS et al., 2016; KHALID et al., 2016; PEREIRA et al., 2016).

Como alternativa, a espectrometria de absorção atômica com atomização por forno de grafite (GF AAS) possui uma alta eficiência para determinação de elementos traços. A viabilidade do uso de modificadores químicos permanentes ou por coinjeção, possibilita a maior estabilização térmica ao analito de interesse em amostras complexas e/ou a melhor separação da matriz durante a quantificação, diminuindo as perdas significativas. Assim, esta revela-se como uma técnica promissora para a determinação de traços e ultra traços de As em alimentos (GONZÁLEZ-ÁLVAREZ et al., 2020; SNEDDON; FARAH, 1994; VIITAK; VOLYNSKY, 2006; VOLYNSKY, 2004; ZHURAVLEV et al., 2015).

A associação da técnica da GF AAS com um preparo de amostras menos complexo e mais rápido, como a análise direta e/ou por suspensão, demonstram grande potencial. Com uso reduzido de reagentes, padrões, amostras, menos etapas de preparo e possibilidades de contaminação, o método traz muitos benefícios para o mercado de análises. Para fomentar a rotina de trabalho em grandes laboratórios, se faz indispensável a seleção de um modificador químico padrão para matrizes alimentícias (CAMPOS, 2016; NOMURA; DA SILVA; OLIVEIRA, 2008).

Assim, o presente trabalho tem como objetivos a realização de um estudo referente à modificação química permanente (Ir, Ir+Rh, Pd, Rh, Ru, W e Zr), por coinjeção (Ir, Pd e Rh) e sem o uso de modificadores químico, que por sua vez resulte na seleção de um modificador químico adequado para matrizes alimentícias propostas, doce de leite, leite em pó integral, leite fluído integral, queijo frescal e queijo muçarela. Também, analisou-se a competência do pré-tratamento por análise direta e por suspensão, com o uso da solução de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH), por meio da espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) na escolha do modificador químico.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 *Modificadores químicos*

Comumente associados a espectrometria de absorção atômica eletrotérmica (ET AAS), os modificadores químicos são substâncias empregados com o propósito de estabilização térmica do analito ou aumento da volatilidade da matriz, que permite o uso de altas temperaturas na etapa de pirólise e na atomização. A etapa de queima, como o nome diz, realiza a eliminação da matéria orgânica da matriz, que por sua vez diminui a interferência destas na etapa de atomização do analito. Os modificadores químicos são frequentemente utilizados para matrizes complexas e analitos mais voláteis, como o arsênio (CASTRO et al., 2002; FROES; WINDMÖLLER; SILVA, 2006; HARRIS, 2012; TSALEV et al., 2000).

Segundo Froes, Windmüller e da Silva (2006), alguns requisitos são necessários para o cumprimento da função de um modificador químicos, sendo estes:

- Estabilização do analito a no mínimo 1000°C na etapa de pirólise, garantindo a eliminação da matriz;
- Dispor de reagentes de alto grau de pureza, evitando contaminantes;
- Apresentar alto ponto de fusão, para não ser detectado;
- Não contribuir com a absorção de fundo;
- Não afetar a sensibilidade da técnica;
- Não diminuir a vida útil do tubo de grafite;
- Deve possuir uma empregabilidade ampla em análises.

Na literatura mencionam-se dois grupos de modificadores comumente empregados em análises via GF AAS, que são os modificadores formadores de carbetos (Nb, Ta, Zr e W) e os metais do grupo da platina (Ir, Pd, Pt, Rh e Ru), também são utilizadas misturas entre estes (ORTNER et al., 2002; TSALEV et al., 2000; VOLYNSKY, 2004).

Os elementos da família 4B – 8B (IVB – VIII B), boro, silício e os lantanídeos também formam carbetos estáveis, alguns com temperaturas acima de 3500°C. Os elementos Nb, Ta, Zr e W são frequentemente empregados como carbetos refratários. Os mecanismos propostos abordam a formação de uma mistura de óxidos do analito e dos metais refratários de elevada estabilidade térmica, isto pois estes elementos formam oxoânions quando associados a temperaturas elevadas e a adição de uma matriz. Na etapa de atomização, o aumento da

temperatura quebra as ligações dos óxidos, na qual ocorre uma formação dos carbetos, evolução do CO e produção do analito livre. (FROES; WINDMÖLLER; SILVA, 2006; ORTNER et al., 2002; TSALEV et al., 2000).

Os metais do grupo da platina (MGP, ou do inglês, PGM, *paladium group metals*) têm como mecanismo proposto, a formação de uma rede de compostos de intercalação, que acarreta na ativação do metal intercalado na etapa de secagem. Estes metais ativados realizam facilmente ligações covalente fortes com os analitos voláteis, que proporcionam estabilidade térmica para elevadas temperaturas das etapas de pirólise e atomização. A perda desta estabilidade ocorre na etapa de pirólise, onde há liberação do analito e em seguida a atomização deste. Os metais alcalinos, alcalinos terrosos, metais nobres, haletos, halogênicos e seus óxidos também são acometidos preferencialmente à intercalação (BULSKA et al., 2002; ORTNER et al., 2002; VOLYNSKY, 2000).

Dentre os fatos abordados por Ortner e colaboradores (2002), estes mencionam o comportamento de modificadores químicos e analitos, na etapa de aplicação da amostra e secagem, que proporcionam uma penetração de até 10  $\mu\text{m}$  na pirografita em atomizadores de grafite horizontal longitudinal (LHGA) e transversal (THGA). Este comportamento é observado para o modificador de Pd + Mg e para o arsênio, e após a etapa de pirólise verifica-se uma penetração de até 30  $\mu\text{m}$  para o PdO, mas o analito e o MgO permanecem em aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  (BULSKA et al., 2002; YAN; NI, 2001).

A modificação química pode ser empregada pelo modo convencional (não permanente) ou permanente. A modificação química convencional realiza a injeção do modificador químico em solução em cada leitura, na qual esta transcorre antes, depois ou simultaneamente com a amostra. De acordo com a escolha, a etapa de secagem para o modificador químico pode ocorrer separada ou juntamente com a matriz. Como não há impregnação do modificador químico, não há aumento do tempo de vida útil no tubo de grafite pirolítico. Este tipo de modificação química gera um aumento do tempo de análise, mas possui maior reprodutibilidade (FROES; WINDMÖLLER; SILVA, 2006; SILVA et al., 1998)

Viitak e Volynsky (2006) abordam o uso da modificação química por pré-injeção de Pd, no qual é submetido ao processo de secagem e em seguida a etapa de pirólise. O modificador é introduzido no atomizador frio, antes da etapa de atomização. Também efetuam a modificação química com Pd coloidal (Pd elementar) para quantificação de As, Cd, Sb e Se em matrizes biológicas.

A modificação química permanente ocorre por meio da impregnação do modificador químico sob a plataforma ou parede do tubo de grafite pirolítica (TGP), que por sua vez pode ocorrer por embebeção, deposição física de vapor, deposição química de vapor, deposição térmica ou eletrodeposição. Dentre estas, a eletrodeposição é a mais eficiente, por haver uniformidade de aplicação. Contudo, a deposição térmica é a mais empregada para modificação química permanente, devido a facilidade de aplicação e uso do próprio equipamento de análise (FROES; WINDMÖLLER; SILVA, 2006).

Apesar da alta empregabilidade, a modificação química por deposição térmica apresenta dificuldades em relação a longos programas de temperatura para sua aplicação. Uma aplicação não uniforme causa distorção dos picos e até formação de picos duplos, além de problemas como efeito memória (TSALEV et al., 2000).

Da Silva (1998) relata o processo de deposição térmica, na qual ocorre a injeção de uma solução de referência do modificador químico e em seguida efetua-se o programa de temperatura para secagem. Este processo transcorre repetidas vezes até que se obtenha um valor de massa determinado do modificador químico no TGP.

Bulska e equipe (2002) mencionam a modificação química permanente por deposição térmica de Pd, por eletrodeposição de Pd, Ir e Rh e um TGP sem modificador, isto para a quantificação de As, Sb e Se por HG AAS.

São diversos os meios de modificação química, e estes sendo constantemente estudados para o aperfeiçoamento em análises com matrizes mais complexas. Volynsky (2004) realiza um estudo comparativo dos modificadores do grupo da platina por espectrometria de absorção atômica eletrotérmica (ET AAS) com um grande número de elementos da tabela periódica. Este exibiu principalmente dados em condições STPF (*Stabilized Temperature Platform Furnace*) e as características destes modificadores em relação à matriz.

Ortner e colaboradores (2002) discutiram os fatos e ficções relacionados aos modificadores químicos permanentes do grupo dos formadores de carbetos e dos metais do grupo da platina. No trabalho aborda questões como o uso de altas temperaturas para estabilização com modificação química permanente por impregnação ou eletrólise e a variação do desvio padrão relativo em relação ao tempo de vida do tubo de grafite com modificação química permanente.

## ***2.2 Contaminantes em alimentos***

Os alimentos são parte fundamental da vida dos seres humanos, sendo o leite é um alimento frequente na dieta humana, principalmente na fase infantil. Sendo uma emulsão com gordura e sais solubilizados, e juntamente com uma suspensão coloidal da proteína caseína, trata-se de um alimento complexo e completo, contendo vitaminas e micronutrientes muito importantes para a saúde humana (OLIVEIRA, 2015; SOARES et al., 2010).

O leite bovino pode ser consumido de várias maneiras, como leite integral, leite desnatado, leite em pó, concentrado de soro de leite, entre outras. Também sendo matéria-prima para diversos produtos, como queijos, creme de leite, doce de leite, leite condensado, entre outros, dos quais em sua maioria são formas concentradas de leite (ASSIS et al., 2016; CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, 2016; KHALID et al., 2016; LIU et al., 2020; QUINÁIA; NÓBREGA, 2000)

O comércio do leite e derivados se caracteriza pela regionalidade de sua produção e consumo, fator associado à sua perecibilidade e grande valor agregado. Pelo fato de ser um alimento de origem animal secretado da glândula mamária, o leite está suscetível a contaminações por compostos potencialmente deletérios. Ao longo da cadeia produtiva são empregados diversas substâncias químicas, através de produtos como antibióticos, hormônios, suplementos alimentares e pesticidas, que por sua vez vão desde o tratamento de infecções no gado leiteiro até a intervenção em sua alimentação, o que pode comprometer a qualidade do leite produzido. A exposição aos consumidores a estes compostos causa preocupações devido aos efeitos adversos que podem causar ao organismo humano adulto e em bebês (ASSIS et al., 2016; RAZA; KIM, 2018; WANG et al., 2019; WELSH et al., 2019).

A utilização de agrotóxicos no controle de pragas ao pasto pode ser um fator importante em relação à contaminação do leite e seus derivados. Estudos demonstram intoxicação acidental de bovinos por arsênio no Brasil, que apresentaram sintomas de intoxicação e até a morte. Os incidentes foram provenientes do consumo de pastagens pulverizadas com herbicida à base de MSMA por estes animais. (DANTAS et al., 2012; GONÇALVES, 2015).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamenta a utilização de agrotóxicos, como o uso do metanoarseniato ácido monossódico (MSMA). O MSMA compõe a base para herbicidas designados para a aplicação em situação pós-emergencial de plantas infestantes em culturas de citros, cana – de – açúcar, algodão e café. Contudo, realiza-se o emprego de herbicida à base de MSMA para o controle de forrageiras em

pastagens, apesar de não indicado pelo órgão responsável. (ANVISA, 20AD; DANTAS et al., 2012; GONÇALVES, 2015).

Ismael e Rocha (2019) identificaram a presença do agrotóxico MSMA em águas subterrâneas e superficiais em Santa Rita – PB, próximo à João Pessoa. Nesta região encontra-se uma usina de sucroalcooleira com uma área de 19.000 hectares, dos quais 9.000 ha são destinados ao monocultivo de cana-de-açúcar.

Outra fonte de contaminação provém da mineração, que por sua vez provoca contaminação por compostos inorgânicos de As no meio ambiente. Ng e colaboradores (2019) e Veloso e seus colaboradores (2019) abordam a contaminação por arsênio nas águas de Paracatu – MG, oriunda da mineração de ouro na região. A transmissão do arsênio pode atingir a cadeia alimentar, gerando um fator em relação à exposição considerável e à ingestão acidental (água e alimentos contaminados).

Gonçalves (2015) listou em seu trabalho acidentes envolvendo arsênio orgânico e inorgânico com animais domésticos em todo o mundo, incluindo o Brasil. A biotransferência afeta diretamente as criações de gado de regiões contaminadas com arsênio, causando um risco à saúde dos consumidores dos produtos potencialmente contaminados.

A exposição prolongada ao arsênio pela água ou solo causa acúmulo nos organismos dos animais. Estudos indicam que a contaminação em bovino ocorre na formação inorgânica trivalente do arsênio, causando diversos sintomas e até a morte do gado, de acordo com o grau de exposição (DATTA et al., 2010).

As espécies inorgânicas de arsênio (III) e arsênio (V) apresentam maior grau de toxicidade em relação às formas orgânicas. A exposição crônica ou aguda ao arsênio acarreta em variadas patologias, como cânceres, distúrbios neurológicos e neurocomportamentais, diabetes, fibrose pulmonar e distúrbios hematológicos, isto devido ao seu alto poder carcinogênico e neurotóxico (DI BELLA et al., 2020; MIHUCZ et al., 2017; WHO, 2018; YU; LEE; CHEN, 2002).

Segundo a Agência para Substâncias Tóxicas e Registros de Doenças (ATSDR, 2005), classifica-o como a substância mais perigosa a saúde humana desde 1997. A OMS (2018) considera o arsênio como um dos dez produtos químicos mais preocupantes para a saúde pública, e delimita como limite recomendável de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de arsênio em água potável, e podendo ser modificado por dificuldades de medição e remoção deste em água potável. Pelo alto risco à saúde pública dos consumidores, a Diretoria Colegiada da Agência Nacional de

Vigilância Sanitária determina pela resolução (RDC) nº 42, de 29 de agosto de 2013, o regulamento técnico sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos, sendo um deles o arsênio (ATSDR, 2016; WHO, 2018).

Os limites máximos para as categorias de “leite fluido pronto para o consumo e produtos lácteos sem adição, sem diluir nem concentrar”, “Leite condensado e doce de leite” e “Queijos” são  $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $0,50 \text{ mg kg}^{-1}$  de arsênio, respectivamente. Nesta lista encontram-se metais e metaloides como contaminantes, além de variados alimentos naturais e industrializados (ANVISA, 2013).

Desta forma, o controle de qualidade deste elemento é de grande relevância para a sociedade, face à sua possibilidade de inserção na cadeia alimentar e à sua alta toxicidade.

### **2.3 Quantificação de arsênio em alimentos**

A contaminação por arsênio (As) é uma questão global, sendo sua origem proveniente de processos industriais, tabaco, mineração, pesticidas, entre outros. Os compostos de arsênio são considerados um risco à saúde pública e ao meio ambiente, para os consumidores da água contaminada e alimentos oriundos desta (PÉREZ-CARRERA; ALVAREZ-GONÇALVEZ; FERNÁNDEZ-CIRELLI, 2016; WHO, 2018).

Os alimentos contaminados apresentam concentrações menores em comparação com as águas subterrâneas, mas ainda sim são potenciais fontes de contaminação. A quantificação do contaminante tornou-se necessária para avaliação do risco de exposição a longo e curto prazo, pela ingestão destes. A técnica mais comum padrão para quantificação de As é a espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS), na qual determina a concentração de analitos com dificuldade de redução para o estado atômico gasoso (HARRIS, 2012)

Fiamengos e colaboradores (2016) abordam sobre a técnica de HG AAS, na qual apresenta alta seletividade pela formação de hidretos voláteis do analito de interesse, como o arsênio. Por ser menos cara e de fácil implementação quando comparada a outras técnicas instrumentais, como HPLC ICP-MS, a técnica possui grande acessibilidade. Com aplicação para quantificação de As, Bi e Sb, a técnica requer elaborado e trabalhoso preparo de determinadas amostras, que por sua vez torna-a demorada e de alto custo.

Khalid e equipe (2016) e Bulska e seus colaboradores (2002) relatam a vantagem de alta tolerância de interferentes pelo HG AAS, isto ocorre pela separação química do analito da matriz, com formação de hidretos na etapa de atomização. No entanto, a necessidade de grandes

volumes de amostras, reagentes e a mineralização de matrizes orgânicas são geralmente pontos fracos da técnica (CASTRO et al., 2002; KHALID et al., 2016).

Outras técnicas alternativas são empregadas para a quantificação de As em alimentos, como: espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS), espectrometria de fluorescência atômica com gerador de hidretos (HGAFS), espectrometria de absorção atômica em forno de grafite com fonte contínua de alta resolução (HR-CS AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) e espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) (KASHANAKI; EBRAHIMZADEH; MORADI, 2017; PEREIRA et al., 2016).

Assim como o HG AAS, a ICP-MS e ICP OES necessitam de trabalhoso preparo de amostra, principalmente para amostras de alimentos, sendo frequentemente utilizada a digestão ácida assistida por microondas. As técnicas requerem equipamentos caros, analistas altamente qualificados para manuseio e aplicação de matrizes complexas. Apesar disto, as técnicas são multielementares e possuem boa sensibilidade (AMORIM *et al.*, 2008; FIAMEGKOS *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2016).

A HR-CS-GF AAS apresenta-se como uma boa alternativa para determinação de multi-elementos em diversas matrizes, além de possuir um programa de otimização de temperatura para remoção do solvente e interferentes sem perda do analito. A técnica possui uma excelente correção de fundo, quando comparado a GF AAS. Também apresenta faixa de trabalho estendida, alcança excelentes limites de detecção e imageamento tridimensional do ambiente da linha analítica, mas a técnica é relativamente cara e nova. (AMORIM *et al.*, 2008; GAMELA *et al.*, 2017; GONZÁLEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2020).

A espectrometria de absorção atômica (AAS) é comumente utilizada para quantificação de metais, mas associada ao forno de grafite permite a determinação de traços de elementos, sendo estes metais e metaloides. O uso de atomizadores elétricos permite a atomização da amostra em altas temperatura, e em maior tempo dos átomos no caminho óptico (DIONÍSIO; GONZALEZ; NÓBREGA, 2011; OZBEK; AKMAN, 2016; QUINÁIA; NÓBREGA, 2000; ZHURAVLEV *et al.*, 2015).

A técnica possui alta sensibilidade e precisão para micro volumes de amostras, além da possibilidade de otimização do programa de temperatura para matrizes complexas. A modificação química possibilita um aumento considerável na sensibilidade da análise,

principalmente para analitos voláteis, proporcionando determinação a níveis de ultra traço (AMORIM *et al.*, 2008; GONZÁLEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2020).

A GF AAS exibe um menor custo de equipamento, manutenção, quantidade de amostra e facilidade de operação. Pode possuir um preparo de amostra simplificado ou nenhum preparo (análise direta). Contudo, a GF AAS tem como maior desvantagem, em relação a ICP OES, a ICP-MS e a HR-CS-GF AAS, ser um método mono-elementar, além de atuar em uma menor faixa de trabalho e menor precisão (CASTRO *et al.*, 2002; GONZÁLEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2020; ZHURAVLEV *et al.*, 2015).

No geral, na análise de amostras de alimentos comumente efetua-se a digestão ácida assistida por microondas ou somente acidificação da amostra, mas podendo ser mais simplificado para a GF AAS. Logo, gera-se um menor consumo de reagentes, de tempo e diminui possíveis contaminações durante o processo. (DIONÍSIO; GONZALEZ; NÓBREGA, 2011; ZMOZINSKI *et al.*, 2015).

Assim, a técnica de GF AAS associada a modificação química, apresenta grandes benefícios para a quantificação de arsênio em matrizes alimentícias, e permitindo um preparo de amostras simplificado.

#### **2.4 *Análise em suspensão e determinação direta***

Como etapa prévia à análise instrumental, o preparo de amostra influencia diretamente a quantificação do analito, que tem como objetivo principal a simplificação do processo sem a perda de precisão e exatidão, além de diminuir a perda do analito e da interferência proveniente da matriz sob a análise. Contudo, esta etapa crucial dispense muito tempo, reagentes concentrados e gera muitos resíduos, e com grande ocorrência de erros sistemáticos por contaminações e perda do analito de interesse por volatilização (AI *et al.*, 2014; KRUG, 2016; NOMURA; DA SILVA; OLIVEIRA, 2008).

As metodologias apresentadas na literatura, para uso em espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), são elaboradas ou simplificados, de acordo com a natureza da amostra, do método, do analito e da concentração (faixa de trabalho) (CAMPOS, 2016; DIONÍSIO; GONZALEZ; NÓBREGA, 2011; NOMURA; DA SILVA; OLIVEIRA, 2008; PEREIRA *et al.*, 2016).

As determinações via GF AAS aprimoram-se em metodologias para determinação direta ou análise por suspensão, mas também pela conversão de amostras sólidas em solução aquosa, isto por meio de via seca e via úmida. O processo via seca ocorre por meio da calcinação do



material orgânico, ou a fusão em materiais inorgânicos refratários, sendo o sólido (cinzas) obtido solubilizado apropriadamente. Tem como vantagem a pré-concentração do analito e simples aplicação, entretanto o processo requer muito tempo, possibilidade de contaminação e de volatilização do analito (MESQUITA, 2014; NOMURA; DA SILVA; OLIVEIRA, 2008; OLIVEIRA, 2015).

Muitos trabalhos na literatura relatam o uso de técnicas de preparo de amostras não simplificados na quantificação de As em alimentos. Huq e equipe (2006) usa em seu preparo de amostra, o processo de secagem e moagem das matrizes (legumes e arroz cozido), seguido de digestão ácida com  $\text{HNO}_3$  para determinação de As via GF AAS. Assim como, Perez-Carrera, Gonçalvez e Cirelli (2016) para quantificação de As em leite via HG AAS, na qual gera cinzas da amostra que foram dissolvidas em  $\text{HCl}$  6 M, e em seguida filtradas.

O preparo de amostras não simplificado por via úmida realiza o processo de digestão ou dissolução das amostras por meio ácido, na qual implica no aquecimento da amostra acrescida de um ácido ou mistura de ácidos inorgânicos. Na digestão ácida, a escolha do ácido interfere diretamente no resultado final da análise, sendo determinado de acordo com a técnica analítica, a matriz e o analito de interesse. Logo, as análises de matrizes de alimentos via AAS utilizam o ácido nítrico como recomendado, e comumente empregado nos trabalhos (CAMPOS, 2016; OLIVEIRA, 2015).

Datta e seus colaboradores (2010) trataram suas amostras de leite e produtos lácteos para quantificação de As via HG AAS, por meio de digestão ácida em placa quente, com 70% de  $\text{HNO}_3$  na amostra

Destaca-se como o mais atrativo e vantajoso dos processos via úmida, a digestão ácida assistida por micro-ondas, uma vez que permite o uso de pequenas quantidades de amostra, menor volume de reagentes, menor possibilidade de perdas do analito por volatilização, menor risco de contaminação e maior eficiência na degradação da matéria orgânica. Contudo, o processo de digestão ácida torna-se exaustivo, demanda tempo e é suscetível à contaminações quando realizado em sistema aberto, o que pode demandar a necessidade de uso do sistema fechado (digestão por micro-ondas), que é o mais recomendado para análise de traços e ultra traços, porém diminui a frequência analítica e aumenta o custo de determinação (CAMPOS, 2016; DIONÍSIO; GONZALEZ; NÓBREGA, 2011; MESQUITA, 2014).

Shannon e Rodrigues (2013) utilizaram digestão por microondas, como preparo das amostras de leite de arroz, para análise de As via GF AAS com modificação química (Pd + Mg).

Quintela *et al.* (2019) quantificou As e Pb em seis espécies de peixes e três espécies de répteis nativos do Brasil por meio da GF AAS. O preparo das amostras consiste em uma digestão ácida com diluição de amostras de músculos e cartilagem das espécies em estudo.

Como opção para simplificação do pré-tratamento de amostras, tem se difundido a análise direta das amostras, pode ocorrer por meio de suspensões ou amostragem direta de sólidos. O método possui grandes benefícios para os laboratórios, e aprimorou-se com a evolução dos equipamentos analíticos e o uso do conceito STPF (*Stabilized Temperature Platform Furnace*). Este conceito consiste no uso de requisitos instrumentais e operacionais, como o corretor de radiação de fundo baseado no efeito Zeeman, a modificação química e os tubos de grafite com revestimento pirolítico e plataforma L'vov (CAMPOS, 2016; GONZÁLEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2020; KRUG, 2016; TINAS; OZBEK; AKMAN, 2017).

O método por análise direta tem como pontos positivos (FORTUNATO, 2013; FROES; WINDMÖLLER; SILVA, 2006; KRUG, 2016; NOMURA; DA SILVA; OLIVEIRA, 2008):

- Simplificação do preparo de amostra;
- Minimização de fontes de contaminação;
- Redução da quantidade de resíduos;
- Diminuição da perda de analito;
- Diminuição do tempo de preparo;
- Redução do volume de amostra;
- Menor consumo de reagentes concentrados;
- Maior detectabilidade (amostras sólidas).

González – Álvarez e colaboradores (2020) propuseram o método de análise direta de sólidos como opção para redução das contaminações durante a etapa de preparo. O método reduz a possibilidade de contaminação, devido a minimização da manipulação, do uso de reagentes perigosos e da baixa exposição na etapa de preparo.

Entretanto, Nomura, da Silva e Oliveira (2008) avaliaram como dificuldades do método a calibração, pela falta de materiais de referência certificados (CRM, no inglês *Certified*

*Reference Materials*) para algumas amostras. Mas Froes *et al.* (2006) abordam a possibilidade de calibração com soluções aquosas para algumas amostras, como realizado em uma parte do trabalho de Zmozinski *et al.* (2015), para determinação de cobre em amostras de peixe e frutos do mar via HS- GF AAS.

Outra questão seria a garantia da homogeneidade das amostras para a determinação, pelo fato de algumas técnicas requererem massas inferiores a 10 mg, assim não havendo devida representatividade em análise de traços. Um estreitamento da faixa de distribuição do tamanho das partículas e um diâmetro inferior a 10 micrometros, melhora a homogeneidade da amostra (KRUG, 2016; NOMURA; DA SILVA; OLIVEIRA, 2008; OZBEK; AKMAN, 2016; TINAS; OZBEK; AKMAN, 2017).

O tamanho das partículas interfere na amostragem, na estabilização da suspensão, na dispensa da alíquota para o atomizador e na eficiência da etapa de atomização para alguns métodos analíticos. A técnica de GF AAS não sofre severamente com a influência da distribuição das partículas em suspensões, como técnicas com nebulização pneumática. Assim, como o uso de absorvância integrada e maiores tempos de residência na etapa de atomização melhoram a precisão de análise em suspensões (FORTUNATO, 2013; KRUG, 2016; NOMURA; DA SILVA; OLIVEIRA, 2008).

O termo suspensão tem como definição um fluido heterogêneo composto de uma fase sólida dispersa por agitação em uma fase líquida. A fase sólida deve conter partículas com diâmetro maior de 1  $\mu\text{m}$ . A análise por suspensões encontra-se em constante desenvolvimento, podendo ser realizada em meios ácidos ou alcalinos (FORTUNATO, 2013; KRUG, 2016).

Freschi e colaboradores (2006) utilizam somente uma diluição de 1:10 com 1% de  $\text{HNO}_3$  em suas amostras de leite, para a quantificação simultânea de As, Bi, Pb, Sb e Se via ET AAS com modificador químico de irídio em TG.

A solubilização em meio alcalino resulta na formação de suspensões da amostra, na qual apresenta-se como alternativa para a digestão ácida. A solução alcalina de hidróxido de tetratilamônia (TMAH) de 25%  $\text{m v}^{-1}$  em água ou metanol vem sendo comumente aplicada em amostras proteica, e também para amostras biológicas. Este proporciona uma dissolução parcial ou completa da matriz, estabilidade na solução/suspensão e redução do tempo de pré-tratamento (Sousa *et al.*, 2013 *apud* CAMPOS, 2016).

Zmozinski *et al.* (2015) realizou em seu trabalho a análise direta de sólidos e análise por suspensão em meio alcalino com o uso de TMAH e NaOH para determinação de cobre em

peixes e frutos do mar via HS-GF AAS. Também foi efetuado o preparo de amostra por digestão assistida por microondas das amostras, na qual foi analisado As total via GF AAS e ICP-MS, em que a comparação dos resultados após tratamento estatístico revelou valores aproximados com o valor do material de referência do As total via ICP-MS e a análise direta de sólidos via GF AAS. O trabalho não constatou diferenças significativas entre a análise direta de sólidos por GF AAS e a análise convencional por ICP-MS (ZMOZINSKI *et al.*, 2015).

A análise direta em amostras líquidas não é muito abordada em trabalhos, mas apresenta boas possibilidades de aplicação em laboratórios pela simplicidade. As amostras líquidas podem ser diluídas, sendo considerado o grau de complexidade destas (DE OLIVEIRA *et al.*, 2017; FRESCHI; FRESCHI; GOMES NETO, 2008; PEREIRA *et al.*, 2016). Freschi e colaboradores (2008) realizaram somente a diluição das amostras de leite na quantificação simultânea de As, Bi, Pb, Sb e Se por ET AAS, assim obtendo ótimos resultados com a análise direta. De Oliveira e colaboradores (2017) empregam o uso de ácido nítrico e Triton - X 100 devido à gordura presente na matriz de leite bovino via GF AAS.

Pereira e colaboradores (2016) realizaram somente a diluição da amostra de óleo de peixe em 1-propanol para a quantificação de As via HS-CS GF AAS.

O uso de amostras líquidas proporciona o uso de vários métodos de pré-tratamento, tendo maiores benefícios da análise o uso de análise por suspensão e a determinação direta da amostra.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 *Instrumentação, acessórios e vidrarias*

Os procedimentos foram realizados em um espectrômetro de absorção atômica modelo Spectra A240Z (Varian, Austrália), com atomizador de tubo de grafite GTA 120, amostrador automático PCD 120, com correção de fundo por Zeeman, marca Varian (Austrália). No processo de determinação do melhor modificador, as medidas de absorvância integrada foram utilizadas como forma de medida do sinal analítico. O gás inerte utilizado foi o Argônio (99,996%, Oximil Gases, Brasil). Lâmpadas de cátodo oco da marca Varian (Austrália) empregadas como fonte de radiação, operaram nas condições recomendadas pelo fabricante.

Todos os materiais utilizados (vidrarias, copos do amostrador automático e outros) foram submetidos previamente um processo de lavagem com solução de detergente, depois enxague abundante com água potável, e ao final passaram por água purificada. Para a descontaminação, foram espalhados uma solução aquosa de ácido nítrico 50% v v<sup>-1</sup> na parte interna por três vezes, de modo a fazer o ambiente, e enxaguado com água ultrapura várias vezes, e posteriormente secos em temperatura ambiente em local livre de poeira (AGILENT TECHNOLOGIES, 2012).

#### 3.2 *Reagentes e materiais certificados*

Todos os reagentes utilizados foram padrões de grau analítico. A água ultrapura com baixa resistividade (< 18,2 MΩ cm) utilizada no preparo das amostras e soluções foi obtida em um sistema de água de purificação de água ultrapura (Direct- Q®, Millipore, Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha). A partir da solução padrão de arsênio (As) 1000 mg L<sup>-1</sup> (1000 ± 4 mg L<sup>-1</sup>) para AAS (Specsol, Jacareí, SP, Brasil) preparou-se diariamente a solução referência (SR) de arsênio (As) 10 mg L<sup>-1</sup>. Utilizou-se o ácido nítrico concentrado (Merck, Darmstadt, Alemanha) de grau analítico, e uma solução de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) à 25% v v<sup>-1</sup> (Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil) para o processo de decomposição parcial (preparo das suspensões). Com o reagente Triton X - 100 (Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil) preparou-se a solução 0,05% v v<sup>-1</sup>, como solução de surfactante coinjectado e solução de limpeza no equipamento (autoamostrador). As soluções referência em meio clorídrico empregadas no recobrimento dos tubos de grafite e nas coinjeções, estão descritas abaixo:

- Solução de irídio (1000 ±0,5) mg L<sup>-1</sup> (Specsol, Jacareí, SP, Brasil);
- Solução de rutênio (1000 ±0,5) mg L<sup>-1</sup> (Specsol, Jacareí, SP, Brasil);

- Solução de tungstênio ( $1000 \pm 0,5$ ) mg L<sup>-1</sup> (Specsol, Jacareí, SP, Brasil).
- Solução de paládio ( $1000 \pm 0,5$ ) mg L<sup>-1</sup> (Specsol, Jacareí, SP, Brasil);
- Solução de zircônio ( $1000 \pm 0,5$ ) mg L<sup>-1</sup> (Specsol, Jacareí, SP, Brasil);
- Solução de ródio ( $1000 \pm 0,5$ ) mg L<sup>-1</sup> (Specsol, Jacareí, SP, Brasil).

### 3.3 *Recobrimento dos tubos de grafite com modificadores permanentes*

Foram designados oito tubos de grafite pirolítico com plataforma integrada para inserção de sete modificadores permanentes e mantendo-se um sem modificador. Os modificadores químicos testados foram: Irídio (Ir), Paládio (Pd), Ródio (Rh), Rutênio (Ru), Zircônio (Zr), Tungstênio (W), Irídio + Ródio e um tubo manteve-se sem modificador. Nos tubos inseriu-se repetidas injeções de 25 µL da solução padrão dos modificadores na plataforma do tubo de grafite, e após cada injeção executou-se o programa de aquecimento exposto na tabela 1. O procedimento consistiu na deposição eletrotérmica de uma solução de referência contendo o modificador de interesse, que por sua vez promove a redução do metal e a volatilização do solvente e impurezas presentes (AGILENT TECHNOLOGIES, 2012).

Tabela 1 – Programa de temperatura empregado para recobrimento dos tubos de grafite

Temperatura, °C	Etapa	Tempo, s	Fluxo de ar, L min <sup>-1</sup>	Tipo de gás
80	Secagem	5,0	0,3	Normal
90	Secagem	60	0,3	Normal
120	Secagem	10	0,3	Normal
1000	Pirólise	5,0	0,3	Normal
1000	Pirólise	1,0	0,3	Normal
1000	Pirólise	2,0	0,0	Normal
2000	Atomização	0,6	0,0(leitura)	Normal
2000	Atomização	2,0	0,0	Normal
2000	Limpeza	2,0	0,3	Normal

Fonte: SILVA *et al.*, 1998

Este processo resultou em uma massa final de 500 µg do metal sobre a plataforma do tubo. O modificador combinado de Irídio e Ródio, apresenta a massa final de 250 µg de cada, que por sua vez totalizou-se 500 µg.

### 3.4 *Descrição e preparo das amostras*

Para o desenvolvimento do trabalho utilizou-se amostras cedidas pelo Centro de Pesquisas e Controle de Qualidade GMO, as quais foram: leite integral fluido, leite integral em pó, queijo muçarela, queijo frescal e doce de leite.

As amostras de queijo frescal e queijo muçarela recebidas foram homogeneizadas em processador de alimentos para realização de uma amostragem simples de cada, de acordo com sua característica e textura. Todas as amostras foram submetidas a preparação mediante a adição da solução de TMAH à 25% v v<sup>-1</sup>, para a formação da suspensão em meio alcalino. No entanto, somente as amostras de leite fluido integral, leite em pó integral e doce de leite possibilitaram a solubilização em água ultrapura e foram avaliadas também a análise direta após diluição 1:1. As amostras foram inicialmente fortificadas com 15 µg L<sup>-1</sup> porém não apresentaram sinal de absorção satisfatório. Assim, foi efetuada nova fortificação com 45 µg L<sup>-1</sup> de As, o que foi suficiente para a avaliação subsequente.

#### 3.4.1 *Análise em suspensão*

As amostras submetidas à preparação para análise em suspensão (com solubilização alcalina) foram o doce de leite, leite em pó integral, e queijo frescal e queijo muçarela. Para o preparo, pesou-se aproximadamente 0,25 g de cada amostra, exceto para o leite fluido integral, para o qual mediu-se 1,00 mL da amostra. As amostras foram transferidas para frascos de polietileno, e foram fortificadas com 45 µg L<sup>-1</sup> de As, inserindo-se 225 µL da solução de referência de As 10 mg L<sup>-1</sup>. Também adicionou-se em cada frasco 4,0 mL da solução de TMAH 25% v v<sup>-1</sup> e 6,00 mL de água ultrapura e homogeneizou-se o sistema. As amostras foram submetidas a aquecimento em banho-maria a 60°C por 1 hora, para o processo de solubilização parcial. Após formação da suspensão, resfriou-se e aferiu-se o volume para 50 mL em cada frasco.

#### 3.4.2 *Análise direta*

As amostras submetidas à análise direta (solubilização em água) foram o doce de leite, leite em pó integral e o leite integral fluído. Inicialmente, realizou-se a reconstituição do leite em pó integral, como determinado pelo fabricante. (proporção de 26g para cada 200 mL de água quente). Mediu-se aproximadamente 3,25 g do pó, na qual solubilizou-se em 25 mL de água ultrapura a 45°C, sob agitação em frasco de polietileno e fortificação com solução de As.

Para a amostra de doce de leite, mediu-se aproximadamente 0,25 g e adicionou-se 10,00 mL de água ultrapura e volume adequado de solução de As para fortificação. Após homogeneização, submeteu-se a solução da amostra ao aquecimento em banho-maria a 60°C por 1 hora e em seguida resfriamento até a temperatura ambiente. O volume final foi aferido para 50 mL.

O leite fluido integral foi diluído 1:1 em água purificada, usando-se 25 mL da amostra em frasco de polietileno, volume adequado de solução de As para fortificação e aferição do volume para 50 mL.

### 3.5 *Escolha dos modificadores*

Para o estudo dos efeitos dos modificadores definiu-se os parâmetros a serem avaliados, que foram medidas de sensibilidade (absorvância integrada) e massa característica juntamente com a análise do sinal dos picos de absorção, a precisão (o desvio padrão relativo) e o seu *background* da resposta analítica para o elemento em questão. As condições experimentais empregadas foram estabelecidas pelo fabricante, de acordo com a tabela 2.

Tabela 2 - Condições experimentais recomendadas pelo fabricante e empregadas nos estudos de escolha de modificador para a determinação de As por GF AAS.

<b>Parâmetros</b>	
Corrente da lâmpada (mA)	12
Comprimento de onda (nm)	193,7
Largura da fenda do monocromador	0,5
Fluxo de Ar (mL min <sup>-1</sup> )	300
Tempo de pirólise (s)	8
Temperatura de pirólise (°C)	1400
Temperatura de atomização (°C)	2600

**Fonte:** Agilent Technologies (2012)

O procedimento padrão consistiu-se com uma pré-injeção da solução estoque de Triton X-100 0,05% v v<sup>-1</sup>, seguido pelo processo de secagem da gota, para a prevenção de resíduos carbonáceos no tubo de grafite. Posteriormente, inseriu-se um volume de 10 µL de amostra previamente preparada no tubo de grafite determinado (DE AMORIM *et al.*, 2006; DE OLIVEIRA *et al.*, 2017).



Primeiramente, realizou-se leituras em triplicata do sinal de absorção e o *background* usando meio de modificadores permanentes para avaliação inicial, assim como a condição sem modificador. A leitura das amostras obedeceu ao programa de temperatura instruído pelo fabricante do equipamento (Tabela 3).

Tabela 3 – Programa de temperatura empregado para estudo dos modificadores

<b>Temperatura, °C</b>	<b>Etapa</b>	<b>Tempo, s</b>	<b>Fluxo de Ar, L min<sup>-1</sup></b>	<b>Tipo de gás</b>
90	Pré-secagem com Triton X-100	60		Normal
80	Secagem	5,0	0,3	Normal
90	Secagem	60	0,3	Normal
120	Secagem	10	0,3	Normal
1400	Pirólise	5,0	0,3	Normal
1400	Pirólise	1,0	0,3	Normal
1400	Pirólise	2,0	0,0	Normal
2600	Atomização	0,6	0,0\ (leitura)	Normal
2600	Atomização	2,0	0,0	Normal
2600	Limpeza	2,0	0,3	Normal

**Fonte:** Agilent Technologies (2012)

Após os resultados obtidos, efetuou-se a leitura em triplicata do sinal analítico de arsênio e também o *background* nas amostras junto com coinjeções das soluções padrões dos modificadores químicos, como demonstrado na tabela 4.

Tabela 4 – Emprego dos modificadores químicos por coinjeção para estudo

<b>Modificadores químicos</b>	<b>Tubo de grafite</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Volume coinjetada (µL)</b>	<b>Massa depositada (µg)</b>
Íridio	Sem modificador	Coinjeção	2,00	-
Paládio	Sem modificador	Coinjeção	2,00	-
Ródio	Sem modificador	Coinjeção	2,00	-
Íridio	Ir	Permanente	-	500
Íridio+Ródio	Ir+Rh	Permanente	-	250 (Ir) + 250 (Rh)
Paládio	Pd	Permanente	-	500
Ródio	Rh	Permanente	-	500
Rutênio	Ru	Permanente	-	500
Tungstênio	W	Permanente	-	500
Zircônio	Zr	Permanente	-	500

**Fonte:** Autoria própria (2020)

O processo sucedeu-se como descrito na tabela 4, em um tubo sem modificador permanente, no qual empregou-se os modificadores químicos puros e associado em pares.

### 3.6 *Crítérios de avaliação*

Para avaliação dos modificadores definiu-se cinco parâmetros para o estudo, que são: absorção integrada, *background* (BG), desvio padrão relativo (DPR), massa característica ( $m_0$ ) e o perfil do pico de absorção.

Os valores de absorção integrada indicam o nível de sensibilidade ao analito de interesse pelo modificador em questão, logo altos valores de absorção indicam alta sensibilidade na leitura. A sensibilidade é um parâmetro que demonstra a variação da resposta em relação a concentração do analito. A interferência da matriz está relacionada ao *background*, que realiza a correção de interferentes de absorção molecular (DOS SANTOS; GONÇALVES; JACOB, 2008; SANTOS, 2009).

O desvio padrão relativo possibilita a avaliação da dispersão de resultados de medidas realizadas em uma mesma amostra, em padrões ou amostras semelhantes, e assim implica na

precisão da análise. Sendo um meio de expressão da reprodutibilidade e repetitividade, é calculada pela equação 1.

$$DPR = \frac{\sigma}{X} \cdot 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, DPR é desvio padrão relativo (%),  $\sigma$  é o desvio padrão dos resultados e X é a média dos resultados (BRITO *et al.*, 2003; DOS SANTOS; GONÇALVES; JACOB, 2008).

O perfil do pico consiste no conjunto da reprodutibilidade, a sensibilidade e a absorção de fundo do método. Logo, verifica-se o sinal de absorção, que indicam a sensibilidade e a precisão. A forma do sinal analítico é importante para avaliar o desempenho da etapa de atomização, onde a simetria e a rápida diminuição até a linha base demonstram uma leitura satisfatória do analito provavelmente com atomização adequada. Quando há ocorrência da formação de uma “cauda” e há baixa simetria do pico, pode indicar efeito de memória e/ou problemas na atomização do analito. O sinal de fundo está relacionado aos interferentes, assim este deve ser abaixo do valor do sinal de absorção.

A massa característica ( $m_0$ ) é definida como a massa do analito de interesse necessária para produzir um sinal de absorvância vs tempo, com área integrada de 0,0044 s, que equivale a 1% de absorção, como demonstrado na equação 2.

$$m_0 = \frac{(C \cdot V \cdot 0,0044 \text{ s}^{-1})}{A} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde, C é a concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), V representa o volume de solução injetado ( $\mu\text{L}$ ), A é a área do pico ( $\text{s}^{-1}$ ). Este parâmetro possibilita avaliar a sensibilidade da técnica, onde valores diminutos implicam em alta sensibilidade. Também permite a comparação entre métodos, pelo valor obtidos em cada análise (AMORIM, 2010; LARA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 1998; WELZ, 1999).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Algumas amostras necessitaram de um processo de solubilização parcial, uma vez que somente a diluição em água ultrapura, não se apresentou satisfatória. Os processos de preparação comumente empregados, envolvem digestão ácida, que pode ser associada ao equipamento de micro-ondas quando determinamos elementos voláteis, que por sua vez torna o processo de preparo de amostra mais caro e um pouco trabalhoso. Como alternativa, utilizamos uma solução de TMAH para preparo de um meio alcalino, juntamente com um banho-maria, um equipamento barato e muito acessível (CAMPOS, 2016; PEREIRA *et al.*, 2016).

Inicialmente, efetuou-se o estudo dos modificadores com fortificação de  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  de As nas matrizes, e sem o uso da solução surfactante de Triton X-100. As amostras foram submetidas ao preparo descrito no item 3.4. Na execução do experimento, houve projeção de bolhas no interior do TPG e a presença de resíduos carbonáceos durante a análise, que por sua vez não gerou sinais de absorvância adequados. Os autores Freschi, Freschi e Gomes Neto (2008), mencionam que a formação de resíduo carbonáceo afeta negativamente a análise direta do leite, que prejudicam os sinais de absorvância e a precisão.

Como propostas de melhoria, definiu-se o uso  $2 \mu\text{L}$  de uma solução surfactante no modo de pré-injeção, com secagem da gota posteriormente. Também se realizou o aumento da fortificação da amostra para  $45 \mu\text{g L}^{-1}$ . Com propósito de verificação do efeito de memória, que acontece pela permanência do analito no tubo de grafite entre as leituras, efetuou-se leituras de brancos entre as leituras das amostras (SILVA *et al.*, 1998).

Com as alterações feitas, obtiveram-se valores de absorvância integrada, *background* (*BG*), desvio padrão relativo (DPR) e massa característica ( $m_0$ ) de cada matriz para cada tipo de modificadores. Para melhor visualização e comparação dos dados, efetuou-se a representação gráfica da absorvância integrada *vs background* e do desvio padrão relativo. Os modificadores mais adequados apresentam maiores valores de absorvância (sensibilidade), sendo estes relacionados a valores de *background* e desvio padrão relativos baixos. Os picos de absorção integrada por GF AAS, foram submetidos a análise visual, e devem apresentar simetria e baixo ruído de fundo (Linha cinza).

#### **4.1 *Doce de leite***

As amostras de doce de leite foram preparadas com solubilização alcalina com TMAH e com solubilização em meio aquoso para um melhor estudo do pré-tratamento de amostras e modificadores. Os resultados obtidos para esta matriz alimentícia estão dispostos na tabela 5 e na tabela 6 a seguir.

Tabela 5- Valores de absorvância integrada, *background* e desvio padrão relativo via GF AAS para a matriz de doce de leite fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina

<b>Modificadores químicos</b>	<b>Absorvância integrada (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b><i>Background</i> (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b>DPR (%)</b>	<b>Massa característica (pg)</b>
<b>Coinjeção Ir</b>	0,0331	-0,0148	3,96	60
<b>Coinjeção Pd</b>	0,0710	0,0210	1,56	28
<b>Coinjeção Rh</b>	0,0391	-0,0011	3,20	51
<b>Ir Permanente</b>	0,0064	-0,0087	1,11	314
<b>Ir + Rh Permanente</b>	0,0100	0,0084	4,90	200
<b>Pd Permanente</b>	0,0132	0,0000	3,71	151
<b>Rh Permanente</b>	0,0191	0,0010	4,45	104
<b>Ru Permanente</b>	0,0282	-0,0065	2,51	71
<b>W Permanente</b>	0,0137	0,0087	6,61	145
<b>Zr Permanente</b>	0,0035	0,0010	4,03	571
<b>Sem modificador</b>	0,0055	-0,0152	9,08	367

**Fonte:** Autoria própria

Tabela 6 - Valores de absorvância integrada, *background* e desvio padrão relativo pela análise direta via GF AAS para a matriz de doce de leite fortificada (45 µg L<sup>-1</sup>)

<b>Modificadores químicos</b>	<b>Absorvância integrada (s<sup>-1</sup>)</b>	<b>Background (s<sup>-1</sup>)</b>	<b>DPR (%)</b>	<b>Massa característica (pg)</b>
<b>Coinjeção Ir</b>	0,0403	0,0165	3,99	49
<b>Coinjeção Pd</b>	0,0727	0,0141	2,43	27
<b>Coinjeção Rh</b>	0,0506	0,0227	4,79	39
<b>Ir Permanente</b>	0,0403	0,0165	3,99	49
<b>Ir + Rh Permanente</b>	0,0206	0,0084	9,61	96
<b>Pd Permanente</b>	0,0033	0,0120	8,02	600
<b>Rh Permanente</b>	0,0126	0,0062	6,38	158
<b>Ru Permanente</b>	0,0172	-0,0056	3,51	11
<b>W Permanente</b>	0,0042	0,0091	7,33	475,20
<b>Zr Permanente</b>	0,0028	-0,0067	2,53	707
<b>Sem modificador</b>	0,0403	0,0165	3,99	49

**Fonte:** Autoria própria

Para a avaliação desta matriz em suspensão, verificou-se os melhores valores de absorvância integrada para modificadores por coinjeção de Pd, de Rh e de Ir (Figura 01). O mesmo observa-se para a amostra por análise direta, na qual apresenta equivalente relação de modificadores com valores de absorvância integrada satisfatórios (Figura 02). Os baixos valores de absorvância integrada sinalizam baixa estabilidade do analito durante a leitura, assim não sendo adequados.

Figura 1 – Representação gráfica da absorvância e *background* obtidos com análise via GF AAS para a matriz de doce de leite fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina

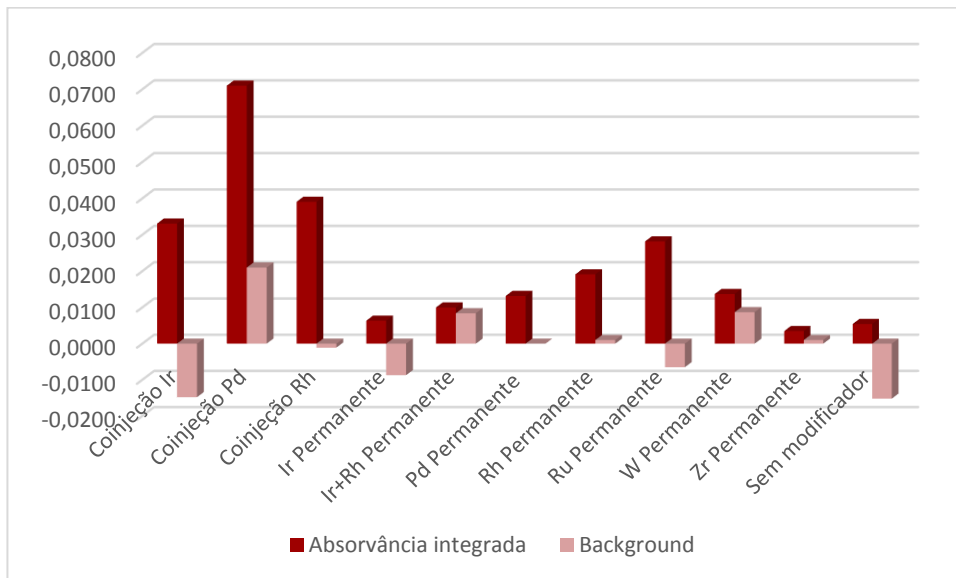
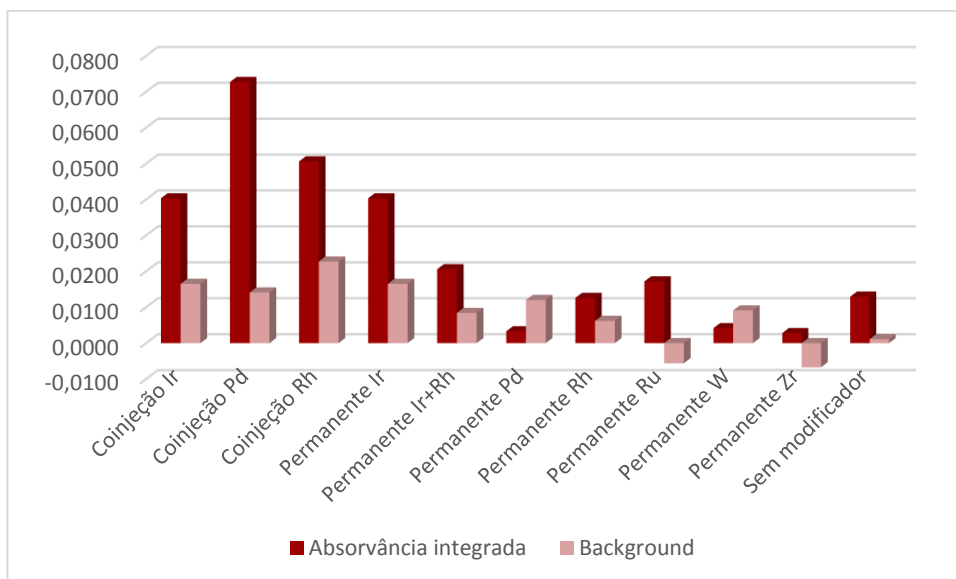


Figura 2 – Representação gráfica da absorvância e *background* obtidos com análise direta via GF AAS para a matriz de doce de leite fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ )





Os menores valores de *background* (BG) foram obtidos para os modificadores permanentes de Pd, de Rh e de Zr, por análise em suspensão (Figura 01). A análise direta da matriz sem modificador apresentou o menor ruído de fundo em módulo, seguido pelo modificador permanente de Rh e de Pd (Figura 02).

Na avaliação da precisão, segundo o DPR resultante da análise em suspensão do doce de leite (solubilização alcalina), observa-se os menores valores para os modificadores Ir permanente (1,11%), por coinjeção de Pd (3,71%) e o Ru permanente (2,51%, Figura 03). Fiorentini *et al.* (2019) relatam a quantificação de As em mel via ET AAS, associada ao uso do modificador por coinjeção de Pd + Mg. O estudo apresenta DPR de 3,9% e 4,1%, no qual o autor utiliza a técnica de microextração líquido-líquido dispersiva para preparo da amostra.

Os valores de DPR das amostras de doce de leite preparadas sem decomposição parcial prévia (análise direta), mostraram-se os melhores para os modificadores permanente de Zr, de Pd e de W (2,53%, 2,43%, 3,51%, respectivamente, Figura 04).

Figura 3 – Estudo da precisão (através do desvio padrão relativo) de diferentes modificadores para quantificação de As em doce de leite fortificado com  $45 \mu\text{g L}^{-1}$  em meio alcalino (TMAH)

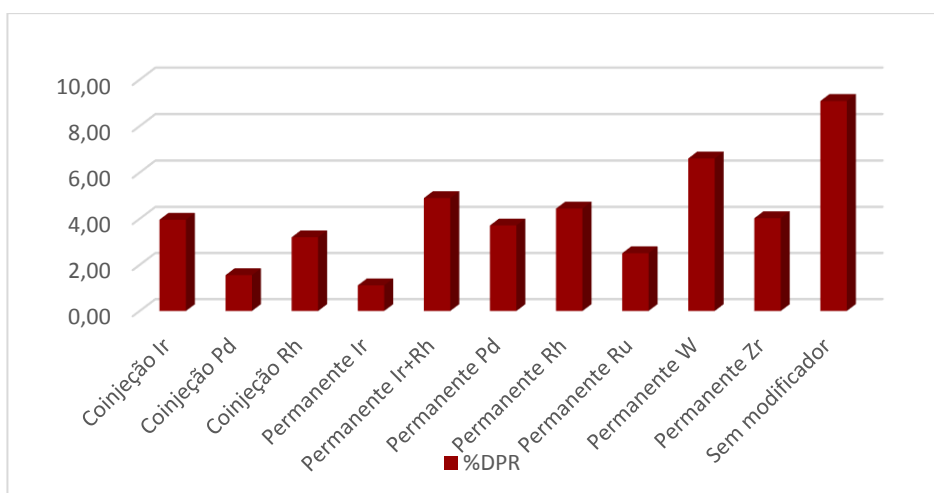
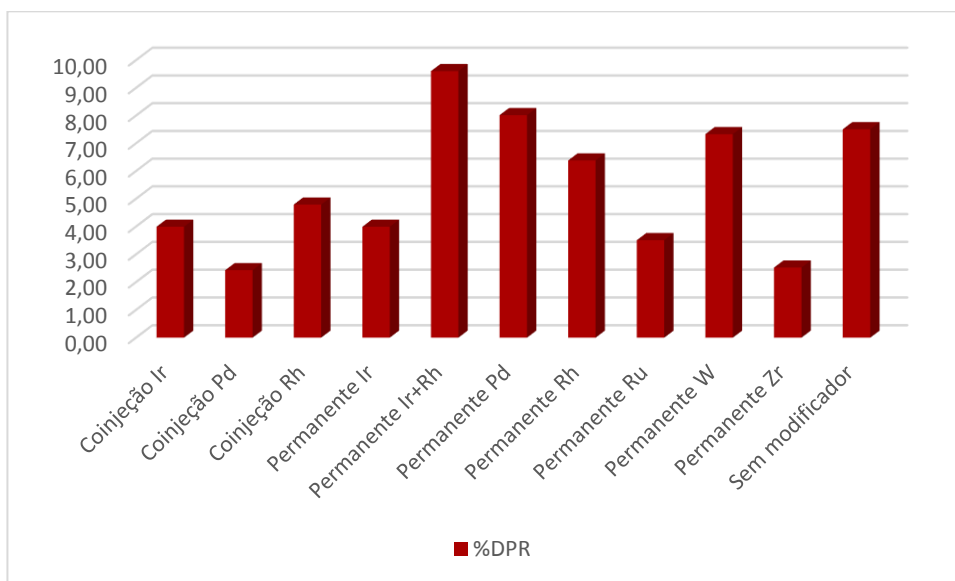


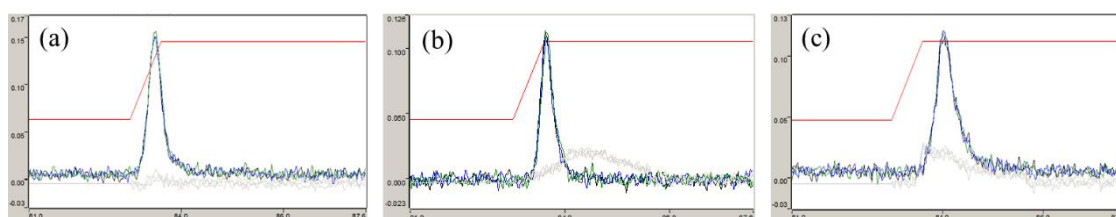
Figura 4 - Estudo da precisão (através do desvio padrão relativo) de diferentes modificadores para quantificação de As em doce de leite fortificado com  $45 \mu\text{g L}^{-1}$  em meio aquoso



Os altos valores de DPR e de ruído de fundo estão diretamente relacionados a grande complexidade da matriz empregada, que por sua vez necessita de uma otimização na etapa de pirólise para adequação. Borba da Silva e colaboradores (1998) mencionam em seu trabalho o resultado da precisão para quantificação de As em tecido de ostra, empregando modificador permanente de Ir, na qual apresenta o valor de 9%.

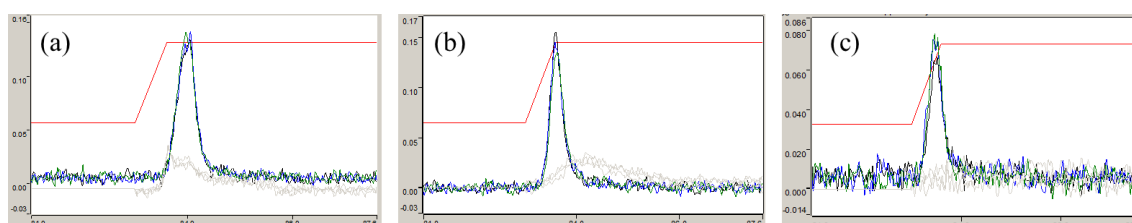
Sobre os picos de absorção das amostras de doce de leite em suspensão e solubilizado em água (análise direta), constatou-se como sendo os melhores os modificadores por coinjeção de Ir, de Rh e de Pd, em ambos (Figura 05 e 06). Os picos por coinjeção de Ir e de Rh, na análise em suspensão, apresentam maior simetria, tendo somente o modificador por coinjeção de Ir baixo ruído de fundo. O modificador por coinjeção de Pd demonstrou um sinal menos simétrico, quando comparado aos demais modificadores Ir e Rh coinjetados contudo apresentou pico com maior área (absorvância), que por sua vez indica maior sensibilidade.

Figura 5 – Picos da absorvância integrada obtidos via GF AAS pela leitura da matriz de doce de leite fortificado ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina



(a) *coinjeção de Ir*, (b) *coinjeção de Rh* e (c) *coinjeção de Pd*.

Figura 6 - Picos da absorvância integrada vs tempo obtidos via GF AAS pela leitura de amostra preparada para análise direta de doce de leite fortificado ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ )



(a) *coinjeção de Pd*, (b) *coinjeção de Rh* e (c) *coinjeção de Ir*

O modificador por coinjeção de Pd apresentou maior sensibilidade em ambas as preparações, tanto na análise direta como na solubilização alcalina, seguido pela coinjeção de Rh e de Ir. Apesar de, apresentarem a formação de picos satisfatórios para ambas as análises, os modificadores por coinjeção de Pd, de Rh e de Ir, estes possuem altos valores de DPR e níveis de BG. Os elevados valores de DPR, resultam da interferência do grande volume de matéria orgânica presente na amostra.

Figura 7 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para os estudos para a quantificação de As por amostragem em suspensão (solubilização alcalina) da matriz de doce de leite via GF AAS

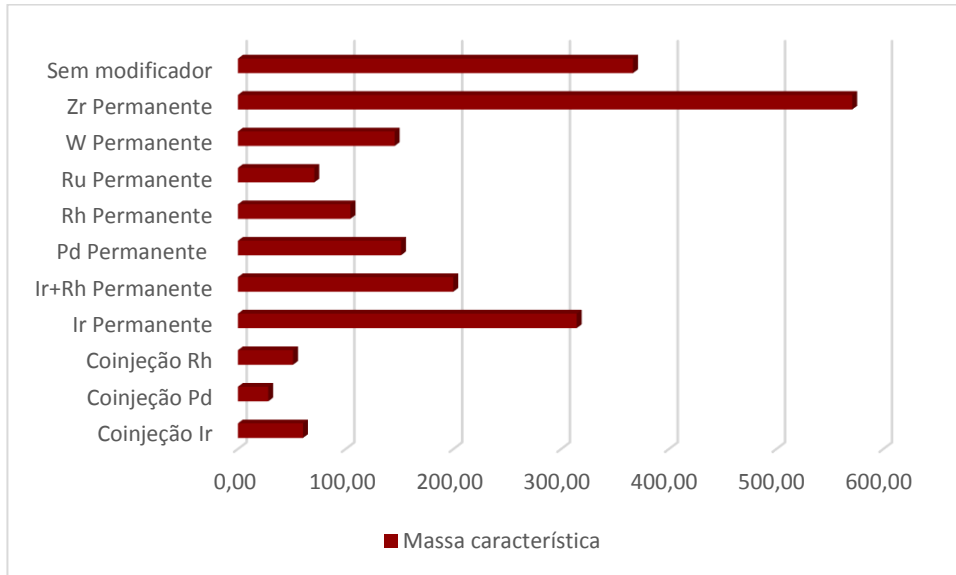
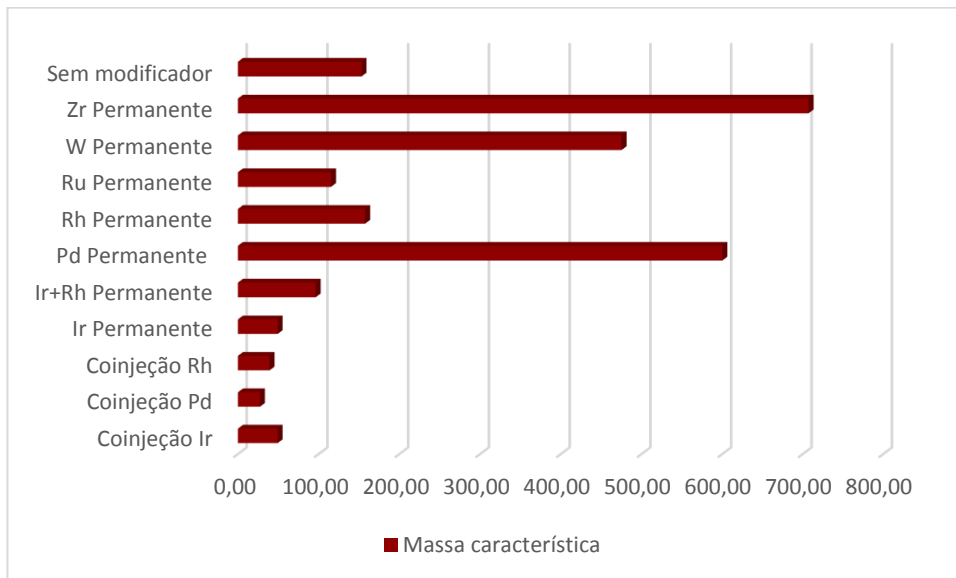


Figura 8 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para os estudos para a quantificação de As por análise direta da matriz de doce de leite via GF AAS



Para a matriz de doce de leite, em geral, observa-se os menores valores da massa característica do analito para os modificadores por coinjeção de Pd, de Rh e de Ir, respectivamente (Figura 7 e 8). Um valor mais baixo de massa característica denota-se maior sensibilidade. O modificador permanente de Ir também se encontrou entre os menores valores, para a análise direta da amostra. Os melhores resultados de massa característica variaram entre 27,22 pg a 60,36 pg. Mihucz e colaboradores (2017) apresentaram um trabalho da quantificação

por especificação de As em água via HS-CS-GF AAS, que por sua vez resultaram em 68 pg e 38 pg, sem modificador e com modificador respectivamente. O trabalho emprega o uso do modificador coinjeção de Pd + Mg, na qual proporciona um DPR de 1,7% a 6,9% para os padrões entre  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Segundo os dados demonstrados, verificou-se que o preparo em meio alcalino com TMAH gerou melhores resultados como pré-tratamento da amostra de doce de leite. Com a avaliação dos parâmetros concluída, constatou-se como os modificadores químicos mais adequados para a matriz doce de leite preparada como uma suspensão alcalina: o paládio, o ródio e o irídio por coinjeção, respectivamente. A mesma sequência se aplica ao doce de leite preparado em meio aquoso.

#### **4.2 *Leite fluido integral***

A matriz de leite fluido integral foi preparada como uma suspensão alcalina com TMAH e com solubilização em meio aquoso para um melhor estudo do pré-tratamento de amostras e modificadores químicos. Os resultados obtidos para a matriz alimentícia estão dispostos na tabela 7 e na tabela 8 abaixo.

Tabela 7 - Valores de absorvância integrada, *background* e desvio padrão relativo via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina

<b>Modificadores químicos</b>	<b>Absorvância integrada (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b><i>Background</i> (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b>DPR (%)</b>	<b>Massa característica (pg)</b>
<b>Coinjeção Ir</b>	0,0469	-0,0153	3,88	42
<b>Coinjeção Pd</b>	0,0611	0,0238	3,65	32
<b>Coinjeção Rh</b>	0,0293	0,0009	7,00	68
<b>Ir Permanente</b>	0,0047	0,0004	3,01	421
<b>Ir + Rh Permanente</b>	0,0034	-0,0028	34,81	733
<b>Pd Permanente</b>	0,0110	0,0117	6,21	181
<b>Rh Permanente</b>	0,0174	0,0030	1,84	114
<b>Ru Permanente</b>	0,0230	0,0004	0,30	86,09
<b>W Permanente</b>	0,0123	0,0114	4,89	161
<b>Zr Permanente</b>	0,0020	0,0009	7,07	990
<b>Sem modificador</b>	0,0037	0,0014	11,47	535

**Fonte:** Autoria própria

Tabela 8 - Valores de absorvância integrada, *background* e desvio padrão relativo pela análise direta via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ )

<b>Modificadores químicos</b>	<b>Absorvância integrada (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b><i>Background</i> (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b>DPR (%)</b>	<b>Massa característica (pg)</b>
<b>Coinjeção Ir</b>	0,0191	-0,0070	6,87	104
<b>Coinjeção Pd</b>	0,0499	0,0547	1,63	40
<b>Coinjeção Rh</b>	0,0143	-0,0188	2,90	138
<b>Ir Permanente</b>	0,0162	-0,0585	5,56	122
<b>Ir + Rh Permanente</b>	0,0194	-0,0242	3,93	102
<b>Pd Permanente</b>	0,0006	-0,0494	64,28	3600
<b>Rh Permanente</b>	0,0110	-0,0626	7,59	181
<b>Ru Permanente</b>	0,0162	-0,0724	2,69	122
<b>W Permanente</b>	0,0002	0,0108	47,14	13200
<b>Zr Permanente</b>	-0,0028	-0,0087	43,71	-720
<b>Sem modificador</b>	0,0128	-0,0545	6,98	154

Fonte: Autoria própria

Para o leite integral fluído, segundo os dados representativos (Figura 9), observou-se que os melhores valores de absorvância integrada para a amostra preparada para a análise em suspensão (solubilização alcalina), foram para os modificadores por coinjeção de Pd, de Ir e de Rh, nesta ordem respectivamente. Para a análise direta, os modificadores por coinjeção de Pd, permanente de Ir + Rh e por coinjeção de Ir apresentaram resultados de absorvância integrada mais adequados.

Os resultados de BG para a suspensão alcalina de leite mais adequados constaram para os modificadores Ru permanente, Ir permanente de Ir e coinjeção de Rh. Contudo, somente o modificador W e Zr permanente e coinjeção de Ir, exibiram valores aceitáveis, ou seja, baixos valores de absorção de fundo, para a análise direta de leite fluído integral via GF AAS (Figura 10).

Figura 9 - Representação gráfica da absorvância e *background* obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite fluído integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina

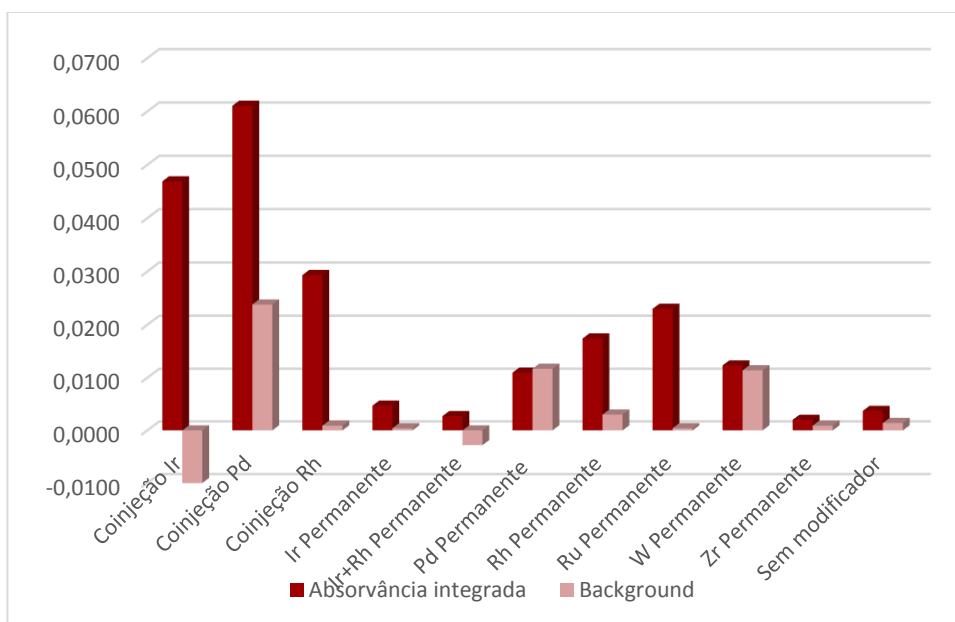
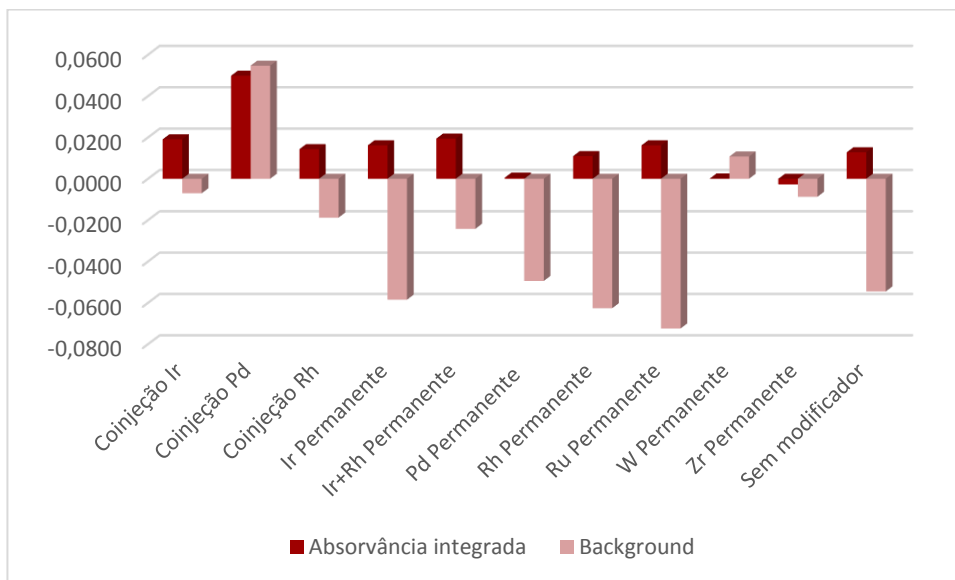




Figura 10 - Representação gráfica da absorvância e *background* obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ )



Os resultados de DPR, para a amostra preparada para análise em suspensão alcalina, encontram-se em valores razoáveis, sendo, os modificadores permanentes de Ru, de Rh e de Ir, os mais baixos dentre todos (Figura 11). Na preparação para análise direta, houve alguns resultados relativamente altos, contudo os modificadores por coinjeção de Pd, Ru permanente e coinjeção de Rh mostraram valores baixos de BG (Figura 12).

Os autores Freschi, Freschi e Gomes Neto (2008) realizaram a determinação de As, Bi, Pb, Sb e Se em amostras de leite diluído via ET AAS, isto para algumas combinações de modificadores químicos. Os resultados apresentaram valores baixos de DPR, que por sua vez variam entre (0,9 – 9,4) % para os modificadores permanentes de Rh +W, de Rh + Zr, de Rh, de W, de Zr e de Rh com coinjeção de Pd + Mg. Para comparações similares, observou-se que os modificadores permanentes de Rh, de W, de Zr e por coinjeção de Pd + Mg apresentaram 3,2%, 4,7%, 8,9% e 1,6% de DPR, respectivamente.

Figura 11 - Valores de desvio padrão relativo para cada modificador estudado para uso em GF AAS na quantificação de As para matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina

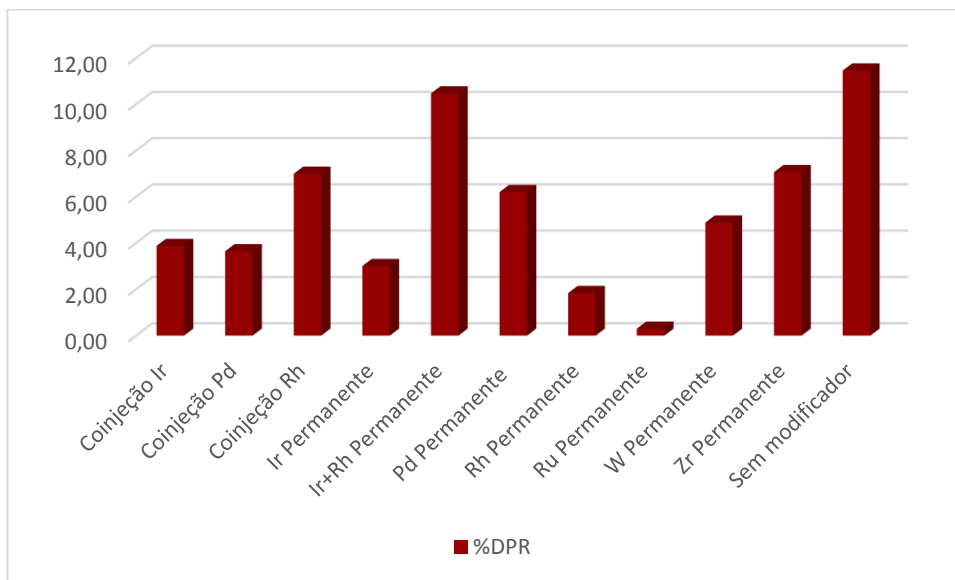
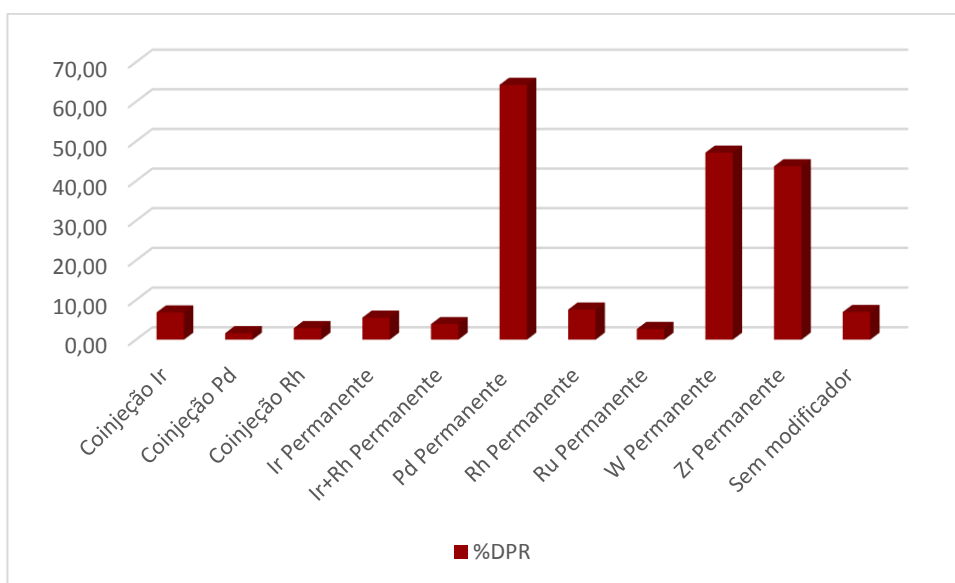


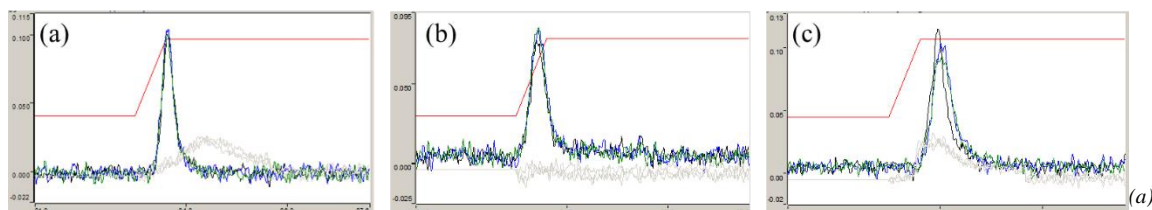
Figura 12 - Valores de desvio padrão relativo para cada modificador estudado para uso em GF AAS na quantificação de As para matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada para análise direta



Dentre todos os resultados para a suspensão alcalina da matriz via GF AAS, os modificadores por coinjeção de Pd, de Ir e de Rh exibiram picos de absorção simétricos, e considerável sensibilidade ao analito, de acordo com os valores de absorção integrada (Figura 13). Contudo, o resultado por coinjeção de Rh e de Pd mostram ruídos de fundo um pouco elevados (linha cinza). Segundo de Oliveira *et al.* (2005), os melhores resultados de

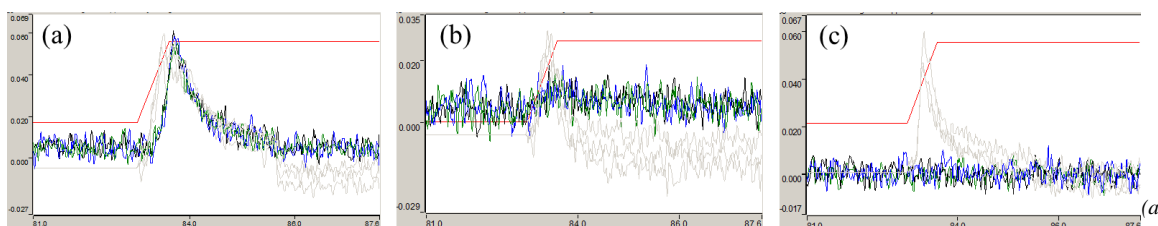
repetitividade e os dos perfis dos picos foram obtidos na temperatura de atomização de 2100°C, como realizado neste trabalho. Estes empregaram o uso de modificador permanente de W associado a coinjeção de Pd, para a quantificação de As, como padrão interno de calibração para quantificação de Se em leite.

Figura 13 - Picos da absorção obtidos nos estudos de modificadores para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina



*coinjeção de Ir, (b) coinjeção de Rh e (c) coinjeção de Pd.*

Figura 14 - Picos da absorção obtidos nos estudos de modificadores para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite fluido integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada para a análise direta



*coinjeção de Pd, (b) coinjeção de Ir e (c) coinjeção de Rh*

Os mesmos modificadores foram observados na preparação para a análise direta, apesar dos valores de BG pouco satisfatórios (Figura 14). A baixa sensibilidade ao analito, pode ser indicada pela não formação de um pico de absorção no espectro. O fato foi observado nos picos de absorção para os modificadores por coinjeção de Ir e de Rh, apesar de valores aceitáveis de BG e DPR. Embora, o modificador por coinjeção de Pd seja o único mostrar um pico razoavelmente simétrico, este apresenta elevado valor de BG, além da formação de uma “cauda” no pico (efeito memória). Para a preparação por análise direta, observou-se resultados abaixo do esperado, quando comparado com a análise em suspensão alcalina. Em destaque, verifica-se a boa sensibilidade ao analito para o modificador por coinjeção de Ir pelo preparo como suspensão alcalina para matriz de leite fluido integral.

Figura 15 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para a suspensão alcalina da matriz de leite fluido integral para a quantificação de As via GF AAS

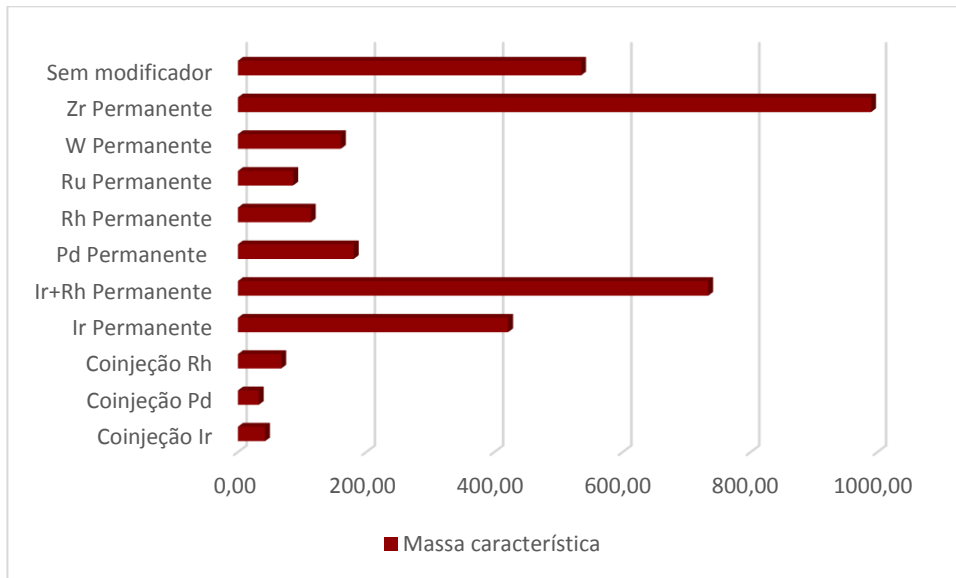
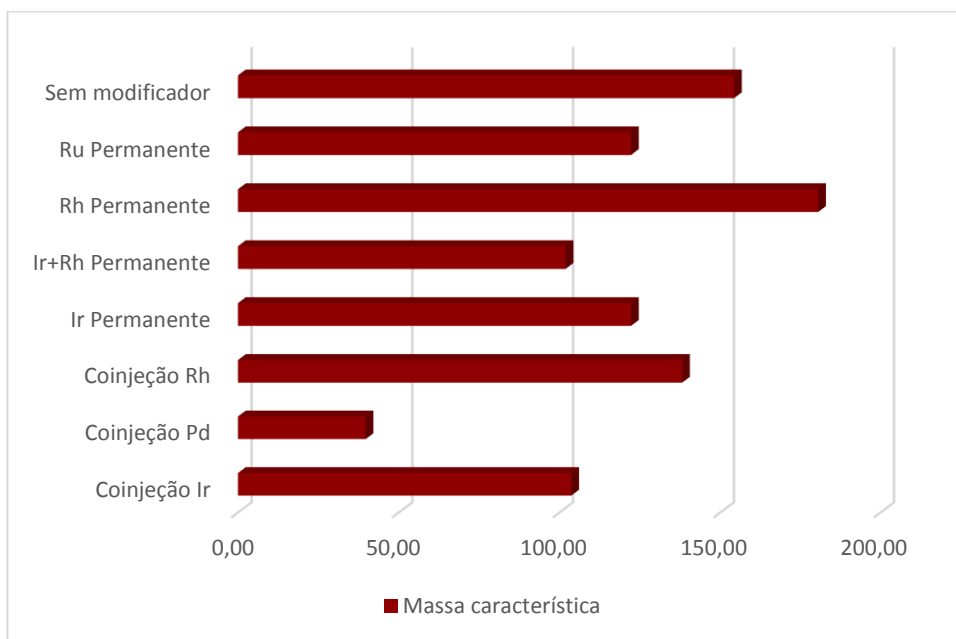


Figura 16 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para a matriz de leite fluido integral preparada para análise direta para a quantificação de As via GF AAS



Para uma melhor visualização dos resultados, removeu-se os modificadores permanentes de Pd, de W e de Zr, pois possuem valores altíssimos de massa característica (Figura 16). Para os resultados da massa característica para esta matriz, constatou-se como sendo os melhores, os modificadores por coinjeção de Pd (32 pg), de Ir (42 pg) e de Rh (68 pg) para a análise em suspensão (Figura 15). Freschi, Freschi e Gomes Neto (2008) obtiveram valores de massas características entre 110,2 pg, 135,5 pg, 193,4 pg e 66,5 pg na quantificação

de As em leite para os modificadores permanentes de Rh, W, Zr e por coinjeção de Pd + Mg, com diferentes temperaturas de atomização para cada um.

Também observa-se o modificador por coinjeção de Pd (40 pg) com a menor massa característica, seguido pelo Ir + Rh permanente (102 pg) e por coinjeção de Ir (104 pg), isto na análise direta. Borba da Silva *et al.* (1998) apresentaram resultados de massa característica de 33,0 pg, 8 pg, 30 pg e 15 pg de As em amostras de tecido de ostra, com os modificadores permanentes de Ir + Rh, de Ir, de Rh e por coinjeção de Pd + Mg (indicado pelo fabricante).

Analisando-se os parâmetros propostos, apurou-se como sendo os modificadores por coinjeção de irídio, paládio e ródio, respectivamente, os mais satisfatórios para matriz de leite fluido integral em suspensão alcalina com TMAH. Para o preparo da análise direta, percebeu-se que os modificadores por coinjeção de paládio, de irídio e Ir + Rh permanente, nesta sequência, com os mais adequados. De acordo com os dados obtidos, o preparo da amostra em meio alcalino com TMAH apresentou melhores resultados dos parâmetros.

#### **4.3 Leite em pó integral**

A matriz alimentícia de leite em pó integral foi preparada em meio alcalino e em meio aquoso, segundo o item 3.2.2 e item 3.2.3. Os resultados obtidos para a matriz alimentícia estão dispostos na tabela 9 e na tabela 10 abaixo.

Tabela 9 - Valores de absorvância integrada, *background* e desvio padrão relativo via GF AAS para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina

<b>Modificadores químicos</b>	<b>Absorvância integrada (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b><i>Background</i> (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b>DPR (%)</b>	<b>Massa característica (pg)</b>
<b>Coinjeção Ir</b>	0,0334	-0,0190	2,40	59
<b>Coinjeção Pd</b>	0,0542	0,0339	3,18	37
<b>Coinjeção Rh</b>	0,0022	0,0161	9,09	900
<b>Ir Permanente</b>	0,0211	0,0008	1,42	94
<b>Ir + Rh Permanente</b>	0,0030	0,0062	9,43	660
<b>Pd Permanente</b>	0,0083	-0,0002	5,45	240
<b>Rh Permanente</b>	0,0156	0,0071	6,41	127
<b>Ru Permanente</b>	0,0228	-0,0109	4,06	87
<b>W Permanente</b>	0,0084	0,0027	10,11	236
<b>Zr Permanente</b>	0,0015	-0,0007	14,62	1366
<b>Sem modificador</b>	0,0154	0,0126	2,29	129d

Fonte: Aatoria própria

Tabela 10 - Valores de absorvância integrada, *background* e desvio padrão relativo para o preparo da análise direta via GF AAS para a matriz de leite em pó integral fortificada (45 µg L<sup>-1</sup>)

<b>Modificadores químicos</b>	<b>Absorvância integrada (s<sup>-1</sup>)</b>	<b><i>Background</i> (s<sup>-1</sup>)</b>	<b>DPR (%)</b>	<b>Massa característica (pg)</b>
<b>Coinjeção Ir</b>	0,0031	0,0104	13,68	639
<b>Coinjeção Pd</b>	0,0582	0,0537	3,02	34
<b>Coinjeção Rh</b>	0,0125	-0,0110	2,84	159
<b>Ir Permanente</b>	0,0159	-0,0433	5,26	124
<b>Ir + Rh Permanente</b>	0,0006	-0,0245	12,91	3600
<b>Pd Permanente</b>	0,0034	-0,0408	6,33	591
<b>Rh Permanente</b>	0,0125	-0,0573	2,84	159
<b>Ru Permanente</b>	0,0161	-0,0440	2,52	123
<b>W Permanente</b>	0,0100	0,0110	21,21	198
<b>Zr Permanente</b>	0,0015	-0,0087	63,38	1366
<b>Sem modificador</b>	0,0145	-0,0474	7,17	137

Fonte: Autoria própria

Nos estudos como a amostra de leite em pó integral, preparada por suspensão alcalina, identificou-se resultados de absorvância integrada satisfatórios para os modificadores por coinjeção de Pd, de Ir e Ru permanente (Figura 17). Apesar dos baixos resultados para a análise direta, observa-se valores satisfatórios para o modificador por coinjeção de Pd. Os demais modificadores exibiram valores de sensibilidade significativamente baixos, assim considerando valores razoáveis para os modificadores permanentes de Ru e de Ir.

Em relação ao parâmetro do BG, constatou-se grandes variações entre os modificadores para a suspensão alcalina, na qual destaca-se os melhores como sendo: os permanentes de Ir, de Pd e de Zr. Dentre os melhores resultados positivos, identificou-se os modificadores por coinjeção de Rh, W permanente e Zr permanente (Figura 18).

Figura 17 - Representação gráfica da absorvância e *background* obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina

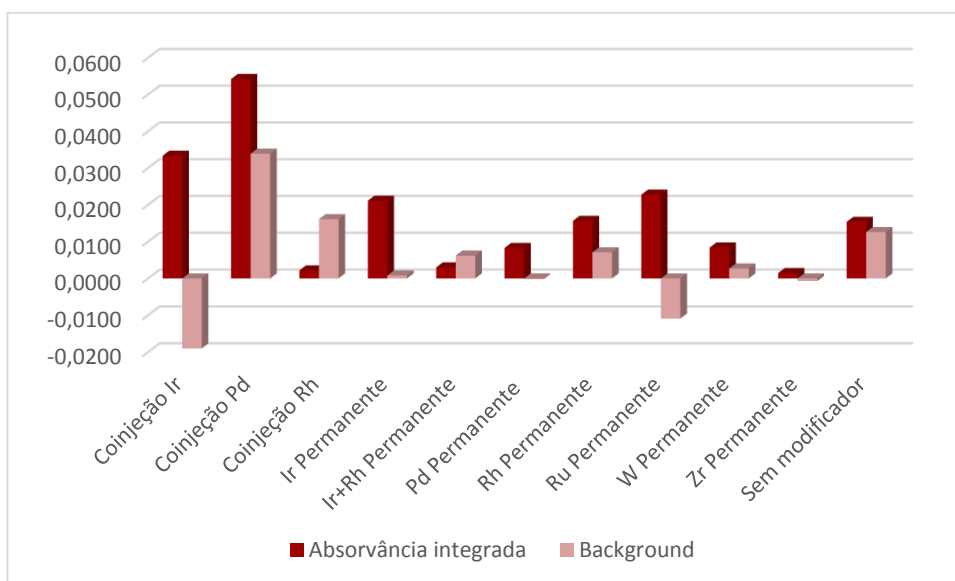
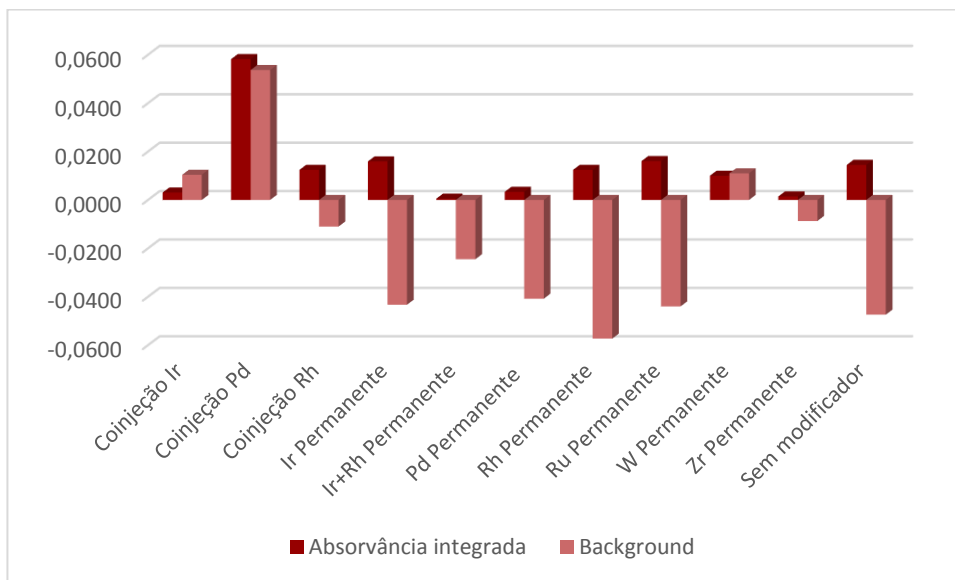




Figura 18 - Representação gráfica da absorvância e *background* obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada para a análise direta



Pela preparação para a análise em suspensão (solubilização alcalina), percebeu-se valores razoáveis de DPR (a partir de 1,42), logo considerou-se como os melhores o modificador de Ir permanente (1,42%), o tubo sem modificador (2,29%) e por coinjeção de Ir (2,40%, Figura 19). Embora, haja um valor discrepante dentre os modificadores no preparo para análise direta, identificou-se como os mais adequados, como sendo os Ru permanente (2,52%), Rh permanente (2,84%) e por coinjeção de Rh (2,84%) (Figura 20). Kim (2004) quantificou As em amostras de suplementos de cálcio à base de leite, com modificador de Pd + Mg, que por sua vez resultou em um DPR de 3,3%. Este valor encontra-se próximo dos resultados de 3,18% e 3,02% do modificador por coinjeção de Pd, para a amostra de leite em pó integral preparadas em meio alcalino e meio aquoso respectivamente (KIM, 2004).

Figura 19 – Valores de desvio padrão relativo de cada modificador estudado para uso em GF AAS na quantificação de As para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada como uma suspensão alcalina

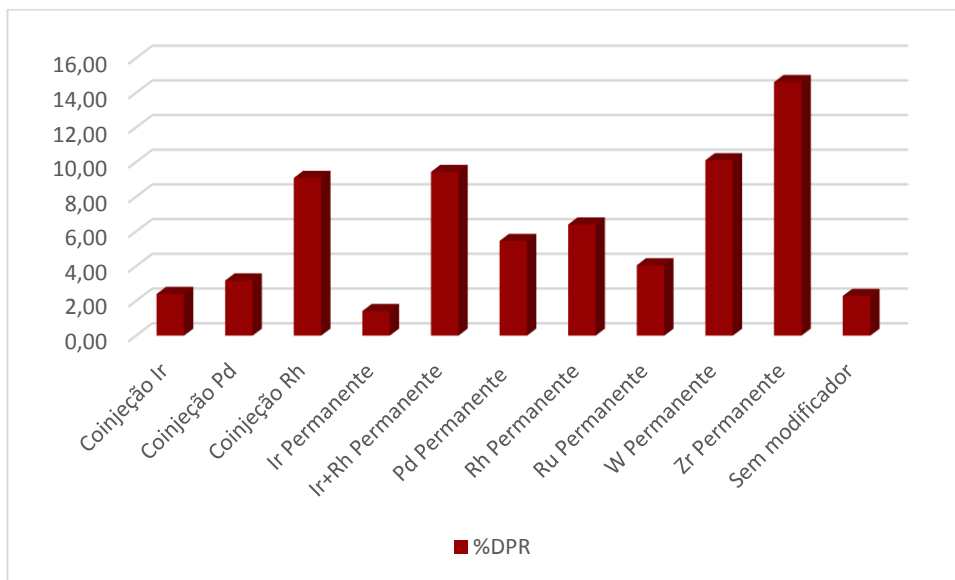
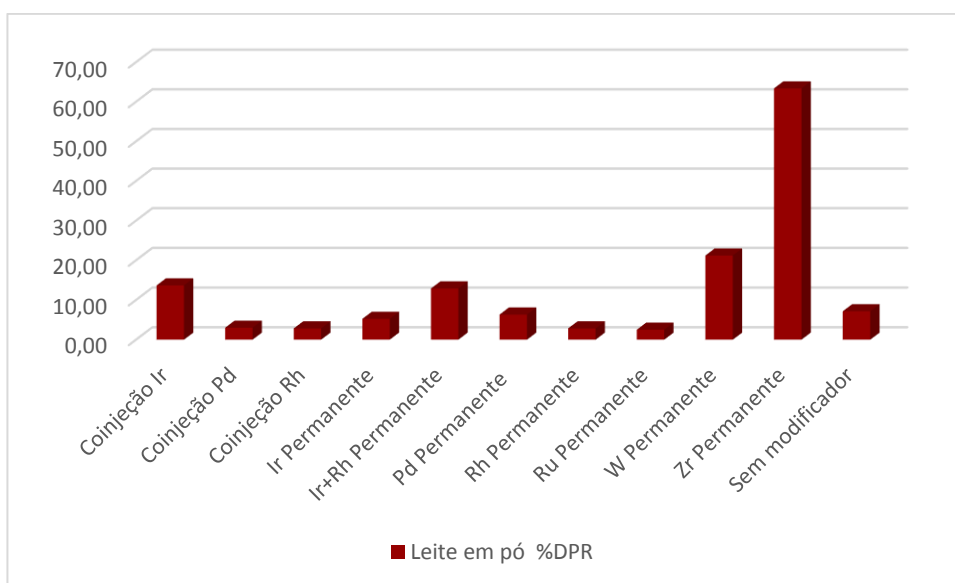


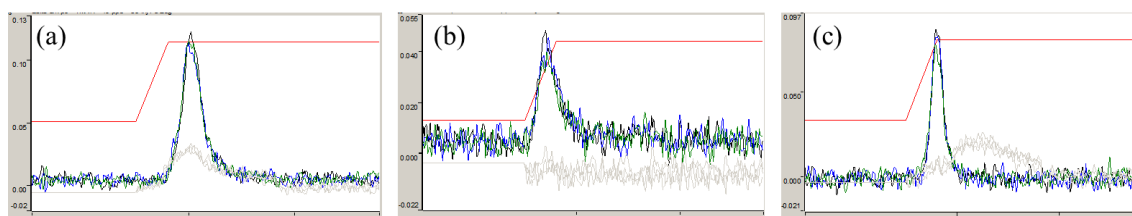
Figura 20 – Valores de desvio padrão relativo de cada modificador estudado para uso em GF AAS na quantificação de As para a matriz de leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada para análise direta



Em relação as imagens dos picos de absorção por modificador, verificou-se como sendo os mais adequados: os modificadores por coinjeção de Pd e de Ir (Figura 21). A formação do pico por coinjeção de Pd, apresentou-se após a rampa de aquecimento para a etapa de atomização. Apesar do ruído de fundo relativamente elevado e valor de absorção integrada um pouco baixa, o modificador por coinjeção de Rh exibiu um pico satisfatoriamente simétrico, e

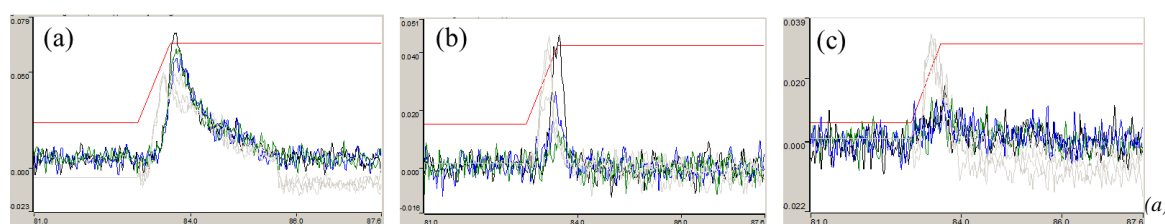
que retorna à linha base rapidamente. Contudo, o pico do modificador por coinjeção de Ir não apresentou grande simetria, além de possuir valores elevados de DPR.

Figura 21 - Picos de absorção obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS em leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparado como uma suspensão alcalina



(a) coinjeção de Pd, (b) coinjeção de Ir e (c) coinjeção de Rh

Figura 22 - Picos de absorção obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS em leite em pó integral fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparado para análise direta



coinjeção de Pd, (b) permanente de W e (c) coinjeção de Rh

Para a análise direta, os modificadores por coinjeção de Pd, de Rh e W permanente apresentaram os picos de absorção os mais aceitáveis, nesta ordem respectivamente, dentre os resultados obtidos (Figura 22). Os modificadores selecionados para a análise direta da matriz, não exibiram picos simétricos, além de possuírem valores relativamente altos de BG e DPR (linha cinza). O modificador por coinjeção de Rh no preparo com suspensão alcalina mostra um pico de absorção acentuado, com retorno rápido a linha base, demonstrando a boa sensibilidade para o analito. A presença de uma “cauda” no pico de absorção para coinjeção de Pd na análise direta da amostra, que por sua vez pode indicar efeito memória. Os valores elevados de ruído de fundo estão fortemente associados a complexidade da amostra empregada, que por sua vez necessita de um tratamento adequado, pois neste caso houve apenas a reconstituição e diluição da matriz.

Figura 23 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para a matriz de leite em pó integral preparado como uma suspensão alcalina para a quantificação de As via GF AAS

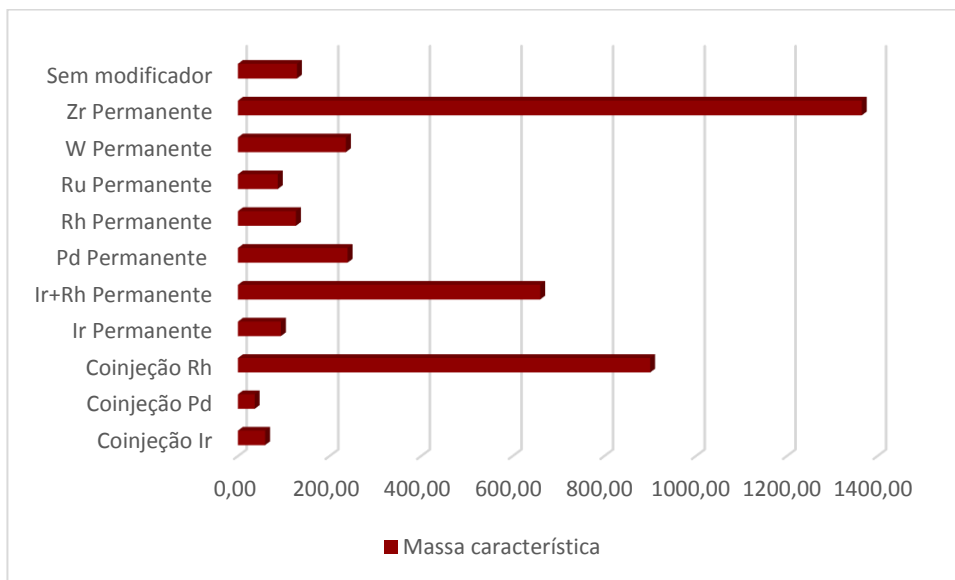
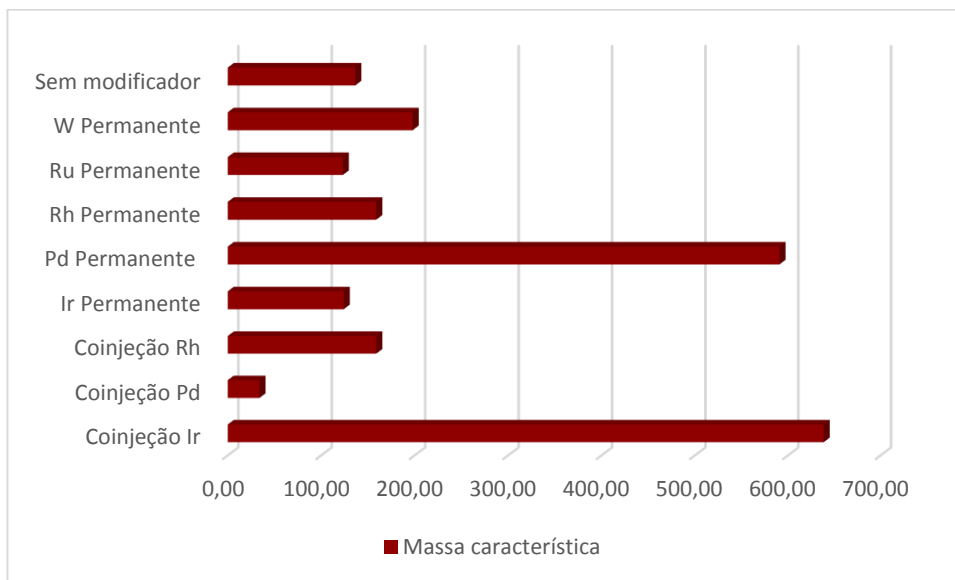


Figura 24 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para a matriz de leite em pó integral preparado para análise direta para a quantificação de As via GF AAS



Os resultados de massa característica para amostra preparada como suspensão, foram menores para os modificadores por coinjeção de Pd (37 pg), de Ir (59 pg) e permanente de Ir (94 pg) (Figura 23). Para a análise direta, os modificadores por coinjeção de Pd (34 pg), permanente de Ru (123 pg) e de Ir (124 pg) apresentaram os menores valores, dentre todos (Figura 24). Contudo, os modificadores Ru permanente e Ir permanente apresentaram altos valores de BG, comparando-se à coinjeção de Pd. Não foi representado no gráfico por questões

visuais, os modificadores permanentes de Ir + Rh e de Zr, por apresentarem valores altos de massa característica. Pereira e colaboradores (2016) estudaram a determinação de As em amostras de óleo de peixe por meio da HR-CS GF AAS, usando análise direta. O trabalho apresentou uma massa característica de 43 pg para uma amostra de óleo de peixe diluída 2: 1 em 1-propanol, e usando soluções aquosas para a calibração. Para a coinjeção de Pd (37 pg), a sensibilidade pela massa característica oferecida no estudo deste trabalho demonstra resultado adequado, quando comparado com a literatura.

Logo, considerando-se os dados dos parâmetros propostos, os modificadores por coinjeção de paládio, de irídio e Ru permanente, apresentaram os melhores resultados para amostra de leite em pó integral preparada como uma suspensão alcalina. Para a amostra em análise direta em meio aquoso, observou-se como os modificadores mais aceitáveis, por coinjeção de paládio, de ródio e de irídio. Dentre as duas opções de pré-tratamento de matrizes, o preparo como suspensão alcalina com TMAH obteve os melhores resultados, assim sendo a mais promissora.

#### **4.4 *Queijo frescal***

As amostras de queijo frescal foram preparadas com solubilização alcalina com TMAH, obtendo-se uma suspensão, e devido a muito baixa solubilidade em água não foi estudada a análise direta. Os resultados obtidos para a matriz alimentícia estão dispostos na tabela 11 abaixo.

Tabela 11 - Valores de absorvância integrada, *background* e desvio padrão relativo via GF AAS para a matriz de queijo frescal fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão

<b>Modificadores químicos</b>	<b>Absorvância integrada (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b><i>Background</i> (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b>DPR (%)</b>	<b>Massa característica (pg)</b>
<b>Coinjeção Ir</b>	0,0526	0,0022	1,88	38
<b>Coinjeção Pd</b>	0,0633	0,0214	0,46	31
<b>Coinjeção Rh</b>	0,0478	0,0273	2,54	41
<b>Ir Permanente</b>	0,0245	0,0006	3,56	81
<b>Ir + Rh Permanente</b>	0,0325	-0,0052	2,18	61
<b>Pd Permanente</b>	0,0120	0,0076	1,78	166
<b>Rh Permanente</b>	0,0193	0,0063	5,10	103
<b>Ru Permanente</b>	0,0271	-0,0063	3,28	73
<b>W Permanente</b>	0,0242	0,0046	1,65	82
<b>Zr Permanente</b>	0,0078	-0,0034	5,44	254
<b>Sem modificador</b>	0,0189	-0,0009	1,88	105

**Fonte:** Autoria própria

Os resultados para a amostra preparada para análise em suspensão, mostraram-se satisfatórios para vários modificadores, que por sua vez apresentaram valores altos de

absorvância (boa sensibilidade). Segundo estes dados, confirmou-se como sendo os preferíveis, os modificadores por coinjeção de Pd, Ir e Rh (Figura 25).

Figura 25 - Representação gráfica da absorvância e *background* obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de queijo frescal fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina

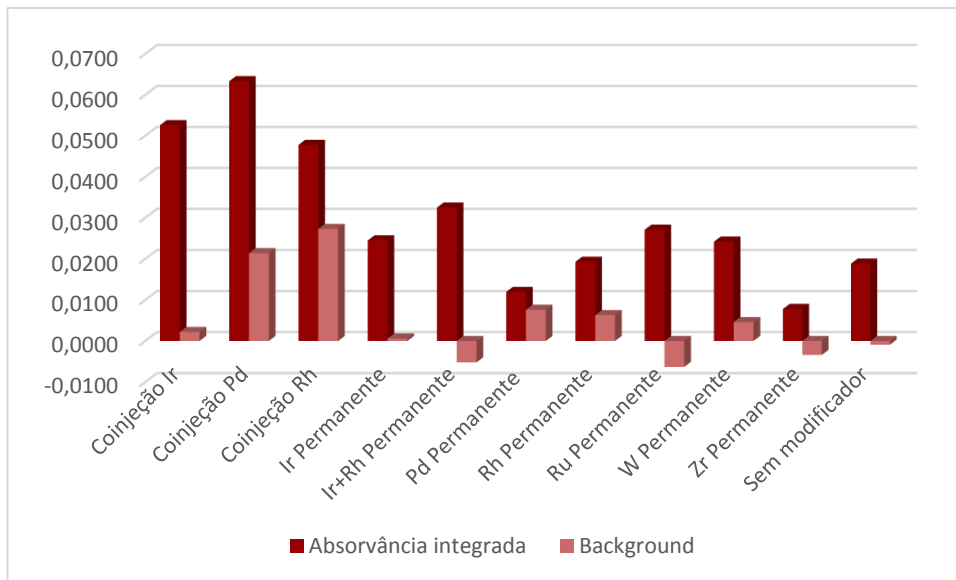
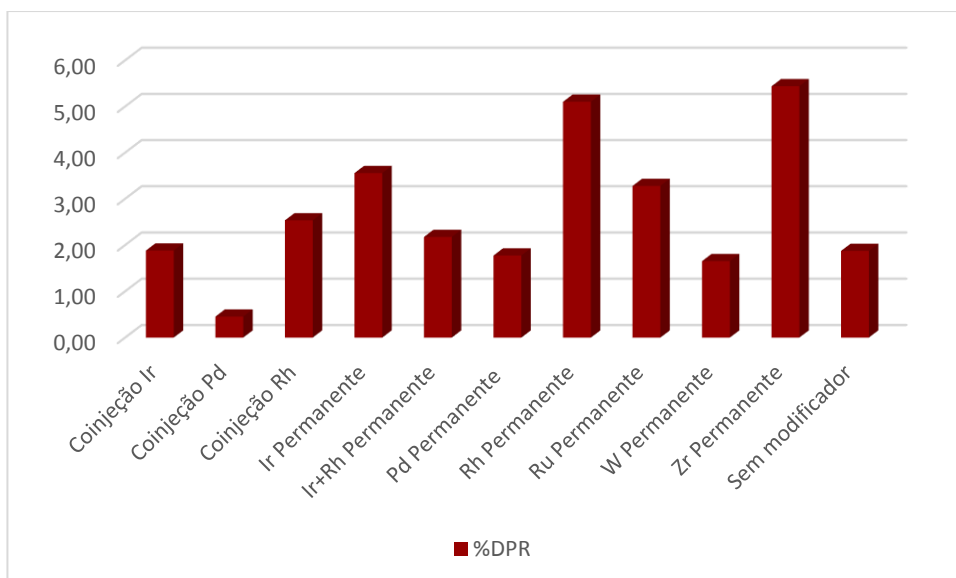


Figura 26 - Valores de desvio padrão relativo de cada modificador estudado para uso em GF AAS da matriz de queijo frescal fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina

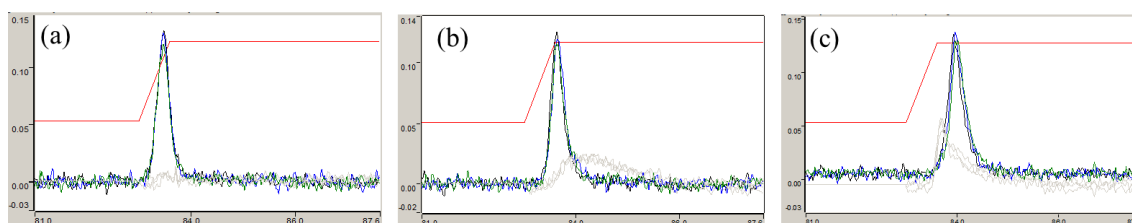


Embora a grande variação de BG entre os modificadores, o Ir permanente, por coinjeção de Ir e W permanente, exibiram resultados adequados (Figura 25).

A matriz de queijo fresco mostrou resultados aceitáveis de DPR, não ultrapassando a porcentagem de 6%. Segundo estas informações, averiguou-se como sendo os mais adequados, os modificadores por coinjeção de Pd (0,46%), W permanente (1,65%) e Pd permanente (1,78%) (Figura 26).

Karadjova, Lampugnani e Tsalev (2004) apresentam os resultados de DPR para análise de As em óleo de lavanda e óleo de rosa por ET AAS, associado ao modificador de Pd e ácido ascórbico. Os colaboradores obtiveram um DPR de 8 – 15% e 9 – 17%, isto para uma diluição simples do óleo de lavanda e óleo de rosas, respectivamente.

Figura 27 - Picos da absorção obtidos nos estudos de modificadores para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de queijo fresco fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina

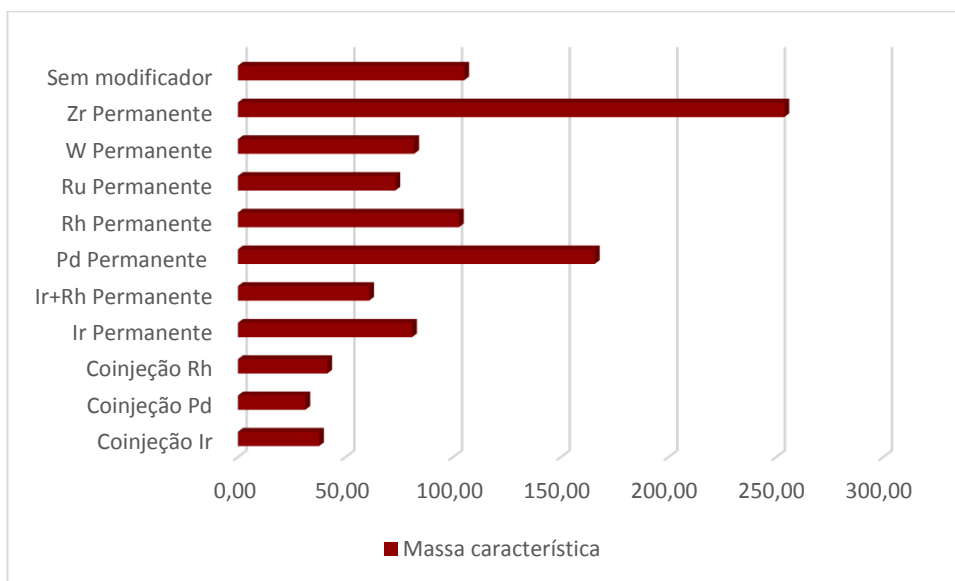


(a) coinjeção de Ir, (b) coinjeção de Rh e (c) coinjeção de Pd

Para a suspensão alcalina da matriz, notou-se os modificadores por coinjeção de Pd, de Ir e de Rh, nesta ordem, como os picos de absorção e com valores de absorção mais adequados (Figura 27). O resultado por coinjeção de Pd exibiu maior absorvância, ou seja, mais sensibilidade ao analito. Contudo, este mostrou ruído de fundo um pouco elevado, porém corrigido, considerando o efeito Zeeman.



Figura 28 - Representação gráfica da massa característica de cada modificador para a matriz de queijo frescal em suspensão alcalina via GF AAS



O mesmo se aplica ao por coinjeção de Rh, que por sua também apresenta elevado valor de absorvância integrada e BG um pouco maior, comparando-o aos demais. Assim, certificou-se como tendo menor e melhores valores de BG e DPR, o modificador por coinjeção de Ir.

Os modificadores com menor valor de massa característica foram por coinjeção de Pd (32 pg), de Ir (38) e de Rh (41 pg) (Tabela 11 e Figura 28). Karadjova Lampugnani e Tsalev (2004) abordam seus resultados para quantificação de As em óleo de lavanda, juntamente com o uso de Pd e ácido ascórbico em um tubo com no ET AAS. Os valores obtidos para as espécies orgânicas e inorgânicas do As variam de 18 pg e 22 pg.

De acordo com o estudo dos dados de análise por suspensão alcalina com TMAH da amostra de queijo frescal, verificou-se que os modificadores por coinjeção de paládio, de irídio e ródio como os mais adequados para a amostra.

#### 4.5 *Queijo muçarela*

Da mesma forma que as amostras de queijo frescal, as amostras de muçarela foram preparadas com solubilização alcalina com TMAH, não sendo possível a análise direta com solubilização em água. Os resultados obtidos para esta matriz estão dispostos na tabela 9 a seguir.

Tabela 12 - Valores de absorvância integrada, *background* e desvio padrão relativo via GF AAS para a matriz de queijo muçarela fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão

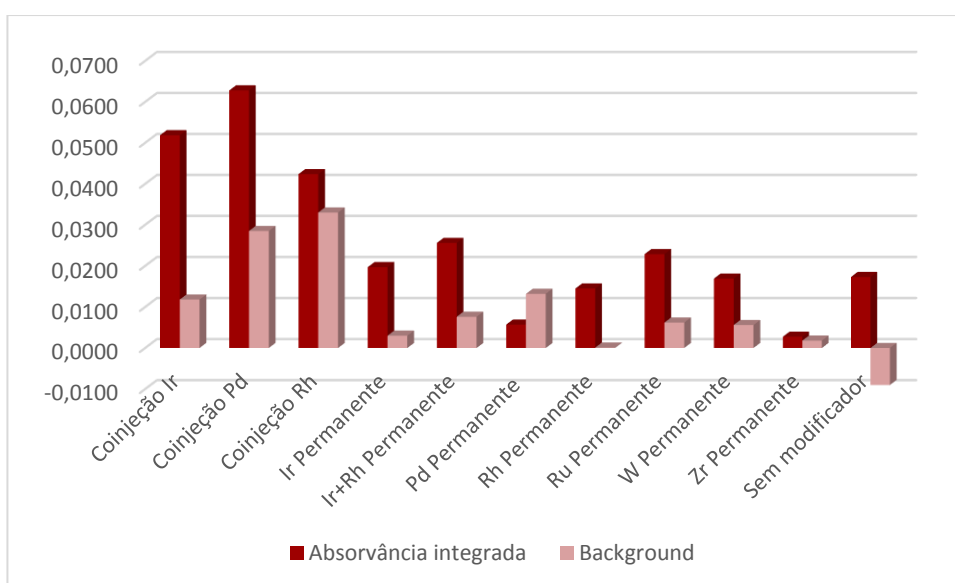
<b>Modificadores químicos</b>	<b>Absorvância integrada (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b><i>Background</i> (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b>DPR (%)</b>	<b>Massa característica (pg)</b>
<b>Coinjeção Ir</b>	0,05187	0,0118	7,80	39
<b>Coinjeção Pd</b>	0,06280	0,0285	2,47	32
<b>Coinjeção Rh</b>	0,04237	0,0330	1,91	47
<b>Ir Permanente</b>	0,01970	0,0030	2,83	101
<b>Ir + Rh Permanente</b>	0,02560	0,0076	5,17	77
<b>Pd Permanente</b>	0,00570	0,0132	2,48	347
<b>Rh Permanente</b>	0,01450	0,0001	2,39	137
<b>Ru Permanente</b>	0,02287	0,0062	1,66	87
<b>W Permanente</b>	0,01690	0,0056	4,18	117
<b>Zr Permanente</b>	0,00275	0,0018	7,71	720
<b>Sem modificador</b>	0,01730	-0,0090	6,94	114

**Fonte:** Autoria própria

Os valores de absorvância integrada obtidos nos estudos de modificadores para a quantificação de As em amostras de queijo muçarela revelaram-se satisfatórios para a suspensão, quando comparado entre estes. Logo, evidenciou-se os modificadores por coinjeção de Pd, de Ir e de Rh, como bons resultados (Figura 29).

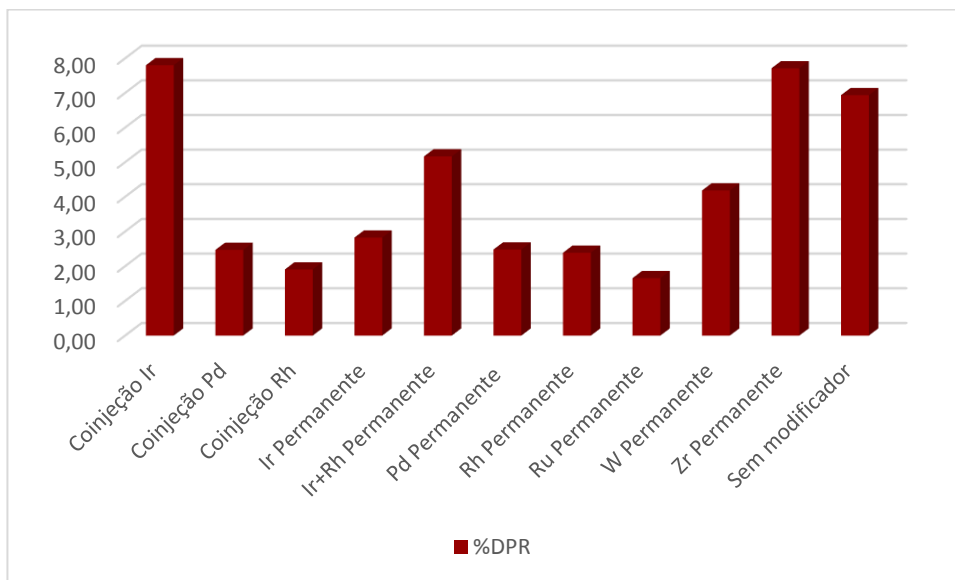
Os modificadores permanentes de Rh, de Zr e de Ir exibiram os menores valores de BG, dentre todos os modificadores (Figura 29), porém a sensibilidade (absorvância integrada) não foi relativamente satisfatória.

Figura 29 - Representação gráfica da absorvância e *background* obtidos nos estudos de modificadores para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de queijo muçarela fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina



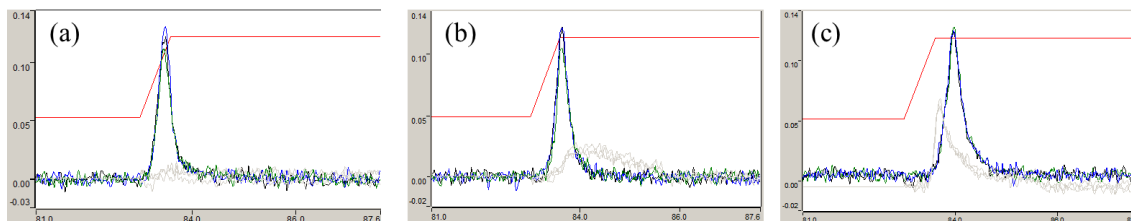
O DPR apresentado para a suspensão alcalina da amostra, revelou os modificadores Ru permanente (1,66%), por coinjeção de Rh (1,91%) e Rh permanente (2,39%), com os menores valores (Figura 30). Khalid e colaboradores (2016) mencionam o DPR de 2,3% a 6,7%, referente a análise de As em produtos naturais por GF AAS, empregando o uso de modificador por coinjeção de Pd+Mg.

Figura 30 - Valores de desvio padrão relativo de cada modificador estudado para uso em via GF AAS na quantificação de As em queijo muçarela fortificado ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina



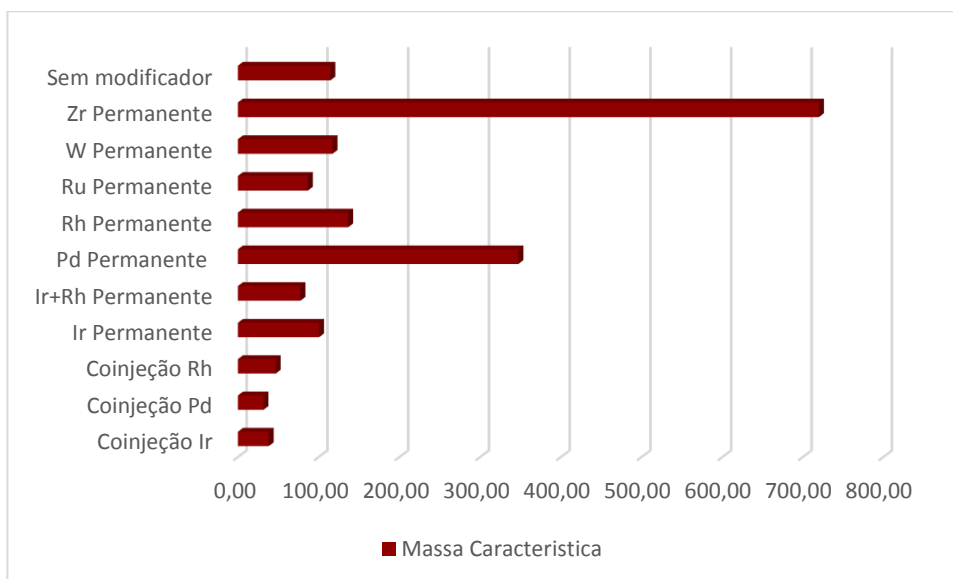
Notou-se os picos formados para suspensão alcalina, os modificadores por coinjeção de Pd, de Ir e de Rh respectivamente, representam os perfis de picos mais aceitáveis e com valores de absorção bons (Figura 31). Os modificadores por coinjeção de Pd e de Ir apresentam simetria no pico, além da absorção de fundo levemente superior nos modificadores por coinjeção de Ir e Rh. O pico de absorção para coinjeção de Pd exibe uma discreta “cauda”, que pode indicar efeito de memória.

Figura 31 - Picos da absorção obtidos nos estudos de modificador para a quantificação de As via GF AAS para a matriz de queijo muçarela fortificada ( $45 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em suspensão alcalina



(a) coinjeção de Ir, (b) coinjeção de Rh e (c) coinjeção de Pd

Figura 32 - Representação gráfica da massa característica de As de cada modificador para a matriz de queijo muçarela em suspensão alcalina via GF AAS



Segundo os resultados obtidos da massa característica, verificou-se como sendo os melhores os modificadores por coinjeção de Pd (32 pg) de Ir (38 pg) e de Rh (47 pg) (Figura 32). Zhuravlev e equipe (2005) obteve uma massa característica de 7,4 pg para modificador de Pd + Mg na determinação de As em óleos, via ET AAS com forno de grafite.

Logo, analisando-se os resultados dos parâmetros propostos, constatou-se que os modificadores por coinjeção de paládio, de ródio e de irídio são os mais satisfatórios para a matriz de queijo muçarela preparada em meio alcalino com TMAH.

#### 4.6 Padronização do modificador químico e do método de preparação para as matrizes

As matrizes abordadas apresentam alto grau de complexidade, assim como o analito de interesse, que por sua vez é um metaloide mais volátil. Para a simplificação do processo de análise se faz necessário a padronização do modificador químico e do tipo de preparação, ou seja a, a seleção do melhor para as amostras propostas.

Os pré-tratamentos propostos apresentaram resultados satisfatórios quanto aos parâmetros determinados, no entanto a análise por suspensão alcalina com TMAH mostrou-se mais vantajosa para a determinação de As via GF AAS nas matrizes lácteas testadas. O desenvolvimento destes dois métodos de preparo demonstrou as dificuldades e vantagens para a análise, no qual percebeu-se a importância da decomposição parcial da matriz para diminuição da interferência, como observado para as suspensões alcalinas. A análise direta em meio aquoso exibiu resultados aceitáveis, principalmente para a amostra de doce de leite, contudo ainda é

necessário um estudo para aperfeiçoamento do método, e assim diminuir a interferência da matriz (TINAS; OZBEK; AKMAN, 2017).

A determinação do modificador químico utilizou os parâmetros descritos, picos de absorção, absorvância integrada, desvio padrão relativo, massa característica e o *background*, que por sua vez seguiu esta ordem de importância. A avaliação dos resultados constatou como sendo o modificador por co-injeção de Pd, o mais adequado como modificador químico comum para as análises, pois o mesmo apresentou melhores condições para todas as matrizes estudadas em ambos os preparos de amostras desenvolvidos.

Ao avaliar os pré-tratamentos por suspensão alcalina com TMAH e preparo em meio aquoso para análise direta separadamente, também constatou como o modificador químico mais adequado, por co-injeção de paládio.

Como segunda e terceira opções para as matrizes em geral e para os pré-tratamentos por suspensão alcalina com TMAH e preparo em meio aquoso para análise direta separadamente, definiu-se os modificadores Ir e Rh por co-injeção, respectivamente. Os modificadores determinados com o estudo pertencem aos metais do grupo da platina (MGP) (VOLYNSKY, 2000).

Viitak e Volynsky (2006) mencionam a eficácia do modificador de Pd aplicado em variadas matrizes, e como o Pd interage com uma grande quantidade de analitos (VOLYNSKY, 2000). Sneddon e Farah (1994) comparam em seu trabalho os resultados do modificador permanente de Ni e por co-injeção de Pd + Mg, quando a co-injeção de Pd+Mg produziu picos de absorção mais proeminentes, para a quantificação simultânea de As, Cd, Se e Pb em água (SNEDDON; FARAH, 1994).

Ao contrário dos modificadores químicos de Zr e de W, que apresentam a formação de carbonetos mais estáveis, os MGP possuem um mecanismo de formação de compostos de intercalação. O Pd, que se apresenta na forma ativa como óxido e em seu estado elementar, efetua a interação com o analito na zona subsuperficial, aproximadamente 10 µm de profundidade na pirografita. Esta ligação do modificador com o arsênio, possibilita a estabilização do analito para temperaturas mais altas, assim diminuindo a perda de analito (ORTNER *et al.*, 2002; VOLYNSKY, 2000).

O uso do modificador químico para a quantificação de As nas matrizes testadas por GF AAS, associado à preparação com decomposição parcial com o uso de hidróxido de tetrametilamônio mostrou ser uma metodologia promissora para a aplicação em métodos de

rotina em laboratórios bromatológicos, devido à sensibilidade, precisão, correção de fundo e possibilidade de substituição à determinação de As por HG AAS, que, geralmente, necessita de decomposição total da amostra, usando micro-ondas, que consiste em um maior custo e menor frequência analítica.

## 5 CONCLUSÃO

A metodologia desenvolvida no estudo provou-se satisfatória para os objetivos propostos, sendo o modificador químico por coinjeção de paládio, o mais adequado no geral para os derivados do leite estudados; doce de leite, leite fluido integral, leite em pó integral, queijo frescal e queijo muçarela. Com resultados similares, os modificadores por coinjeção de Rh e Ir também apresentaram resultados aceitáveis.

Os modificadores químicos foram de grande relevância para a estabilização do analito durante as etapas de pirólise e atomização, assim diminuindo a perda de arsênio. A técnica de GF AAS associada ao uso de modificadores químicos e a solubilização alcalina para a quantificação de As em matrizes alimentares, mostrou-se promissora para aplicação em métodos de rotina nos laboratórios.

A abordagem da análise direta e por suspensão apresentou-se como um grande diferencial para o leite e seus derivados via GF AAS, na qual tornou o pré-tratamento simplificado, rápido, aplicável, com menor geração de resíduos e com considerável diminuição de possíveis contaminações. O uso da solução alcalina de TMAH proporcionou maior estabilização na suspensão, assim garantindo a reprodutibilidade do método.

Apesar do cumprimento da proposta do trabalho, se faz necessário a continuação dos estudos para desenvolvimento da otimização de alguns parâmetros, como volume de modificador, volume de TMAH, temperatura de pirólise, temperatura de atomização e tempo de atomização. O aperfeiçoamento do método poderá promover um aumento da sensibilidade, reprodutibilidade, precisão e exatidão, e podendo ser validada para emprego em laboratórios de análise de rotina.



## REFERÊNCIAS

AGILENT TECHNOLOGIES. **Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers User ' s Guide**. Austrália: Agilent Technologies. Inc., 2012.

AI, X. et al. Analytical method for the determination of trace toxic elements in milk based on combining Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles accelerated UV fenton-like digestion and solid phase extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 34, p. 8586–8593, 2014.

AMORIM, F. A. C. et al. Espectrometria de absorção atômica: O caminho para determinações multi-elementares. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1784–1790, 2008.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regularização de produtos – Agrotóxicos/ Monografias autorizadas. MSMA**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>>. Acesso em: 12 fev. 2020.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 42 de 29 de Agosto de 2013. "Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos ". . 2013, p. 33–35.

ASSIS, J. DE et al. Cadeia produtiva do leite no Brasil no contexto do comércio internacional. **Rev. Ciênc. Empres**, v. 17, n. 1, p. 63–93, 2016.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Addendum to the toxicological profile for arsenic. Division of Toxicology and Human Health Sciences. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**, n. February, p. 7, 2016.

BRITO, N. M. et al. Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129–146, 2003.

BULSKA, E. et al. Secondary ion mass spectrometry for characterizing antimony, arsenic and selenium on graphite surfaces modified with noble metals and used for hydride generation atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 12, p. 2017–2029, 2002.

CAMPOS, N. DA S. **Solubilização de amostras de biológicas visando a determinação de chumbo e ferro por espectrometria de absorção atômica.** [s.l.] Universidade Federal de Juiz de Fora, 2016.

CASTRO, M. A. et al. Behavior of thorium, zirconium, and vanadium as chemical modifiers in the determination of arsenic by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 1, p. 1–14, 2002.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. **Química, Bioquímica, Análise Sensorial e Nutrição no Processamento de Leite e Derivados.** Rio de Janeiro - RJ: Elsevier, 2016.

DANTAS, G. N. et al. Intoxicação aguda por metano arsonato ácido monossódico em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 12, p. 1239–1245, 2012.

DATTA, B. K. et al. Chronic arsenicosis in cattle with special reference to its metabolism in arsenic endemic village of Nadia district West Bengal India. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 2, p. 284–288, 2010.

DE AMORIM, F. R. et al. Comparative study of conventional and multivariate methods for aluminum determination in soft drinks by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 82, n. 2, p. 168–173, 2006.

DE AMORIM, F. R. **Desenvolvimento de métodos espectrométricos para a determinação de constituintes inorgânicos em leite e alimentos infantis similares sem prévia decomposição.** [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

DE OLIVEIRA, T. M. et al. Direct determination of Pb in raw milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) with electrothermal atomization sampling from slurries. **Food Chemistry**, v. 229, p. 721–725, 2017.

DI BELLA, C. et al. Heavy Metals and PAHs in Meat, Milk, and Seafood From Augusta Area (Southern Italy): Contamination Levels, Dietary Intake, and Human Exposure Assessment. **Frontiers in Public Health**, v. 8, 2020.

DIONÍSIO, A. G. G.; GONZALEZ, M. H.; NÓBREGA, J. A. Determination of arsenic in chicken and chicken production-related samples using graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 49–52, 2011.

DOS SANTOS, L. M. G.; GONÇALVES, J. M.; JACOB, S. D. C. Determinação simultânea de As, Cd e Pb em amostras de água purificada para hemodiálise por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, após otimização multivariada baseada no uso de planejamento experimental. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 975–979, 2008.

FIAMEGKOS, I. et al. Accuracy of a method based on atomic absorption spectrometry to determine inorganic arsenic in food: Outcome of the collaborative trial IMEP-41. **Food Chemistry**, v. 213, p. 169–179, 2016.

FORTUNATO, F. **Determinação simultânea de “CD” e “PB” e de “CR” e “NI” em plantas medicinais empregando a espectrometria de absorção atômica com amostragem direta de suspensões.** [s.l.] UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 2013.

FRESCHI, G. P. G.; FRESCHI, C. D.; GOMES NETO, J. A. Evaluation of different rhodium modifiers and coatings on the simultaneous determination of As, Bi, Pb, Sb, Se and of Co, Cr, Cu, Fe, Mn in milk by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, v. 161, n. 1–2, p. 129–135, 2008.

FROES, R. E. S.; WINDMÖLLER, C. C.; SILVA, J. B. B. DA. Emprego da Modificação Química Permanente para a Determinação de Metais em Matrizes Diversas por Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite. **Revista Analytica**, n. 23, p. 32–43, 2006.

GAMELA, R. R. et al. Development of analytical methods for the determination of copper and manganese in infant formula using high resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. **Analytical Methods**, v. 9, n. 15, p. 2321–2327, 2017.

GONÇALVES, M. A. **Aspectos clinopatológicos da intoxicação por arsênio orgânico em bovinos.** [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, R. J. et al. A handling-free methodology for rapid determination of Cu species in seawater based on direct solid micro-samplers analysis by high-resolution

continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 206, p. 7, 1 jan. 2020.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 8a edição ed. Rio de Janeiro - RJ: Editora LTC, 2012.

HUQ, S. M. I. et al. Arsenic contamination in food-chain: Transfer of arsenic into food materials through groundwater irrigation. **Journal of Health, Population and Nutrition**, v. 24, n. 3, p. 305–316, 2006.

ISMAEL, L. L.; ROCHA, E. M. R. Estimate of the contamination of groundwater and surface water due to agrochemicals in the sugar-alcohol area, santa rita, state of paraíba, Brazil. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 24, n. 12, p. 4665–4676, 2019.

KARADJOVA, I. B.; LAMPUGNANI, L.; TSALEV, D. L. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of arsenic in essential lavender and rose oils. **Talanta**, v. 65, n. 4, p. 1015–1021, 2005.

KASHANAKI, R.; EBRAHIMZADEH, H.; MORADI, M. Ultrasound-assisted supramolecular solvent microextraction coupled with graphite furnace atomic absorption spectrometry for speciation analysis of inorganic arsenic. **Analytical Methods**, v. 9, n. 21, p. 3121–3127, 2017.

KHALID, R. S. et al. Reliability of graphite furnace atomic absorption spectrometry as alternative method for trace analysis of arsenic in natural medicinal products. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 9, p. 1967–1972, 2016.

KIM, M. Mercury, cadmium and arsenic contents of calcium dietary supplements. **Food Additives and Contaminants**, v. 21, n. 8, p. 763–767, 2004.

KRUG, F. J. R. F. R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. 1. ed. São Paulo: EditSBQ, 2016. v. 1

LARA, P. C. P. et al. Research Article Validation of a method for direct cadmium determination in breast milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry using tantalum treated graphite tube and co-injection of iridium as chemical modifier. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 4, p. 366–371, 2015.

LIU, Y. et al. Changes in bioactive milk serum proteins during milk powder processing. **Food Chemistry**, v. 314, p. 126177, 2020.

LOPES, T. O. M. et al. Metals, arsenic, pesticides, and microcystins in tilapia (*Oreochromis niloticus*) from aquaculture parks in Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 16, p. 20187–20200, 2020.

MESQUITA, G. M. **Metodologias de preparo de amostras e quantificação de metais pesados em sedimentos do Ribeirão Samambaia, Catalão-GO, empregando Espectrometria de Absorção Atômica**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS CAMPUS, 2014.

MIHUCZ, V. G. et al. Spectrochimica Acta Part B Fast arsenic speciation in water by on-site solid phase extraction and high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry ☆. v. 128, p. 30–35, 2017.

NG, J. C. et al. Health risk apportionment of arsenic from multiple exposure pathways in Paracatu, a gold mining town in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 673, p. 36–43, 2019.

NOMURA, C. S.; DA SILVA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: Uma revisão. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 104–113, 2008.

OLIVEIRA, A. F. DA R. **Análise de produtos agroalimentares, utilizando técnicas espectrofotométricas Ana**. [s.l.] Universidade do Porto. Faculdade de Ciências, 2015.

ORTNER, H. M. et al. Modifiers and coatings in graphite furnace atomic absorption spectrometry - Mechanisms of action (A tutorial review). **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 12, p. 1835–1853, 2002.

OZBEK, N.; AKMAN, S. Determination of Chlorine in Milk via Molecular Absorption of SrCl Using High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 28, p. 5767–5772, 2016.

PEREIRA, É. R. et al. Investigation of chemical modifiers for the direct determination of arsenic in fish oil using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 150, p. 142–147, 2016.

PÉREZ-CARRERA, A.; ALVAREZ-GONÇALVEZ, C. V.; FERNÁNDEZ-CIRELLI, A. Transference factors as a tool for the estimation of arsenic milk concentration. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 16, p. 16329–16335, 2016.

QUINÁIA, S. P.; NÓBREGA, J. A. Determinação direta de cromo em açúcar e leite por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 185–190, 2000.

RAZA, N.; KIM, K. H. Quantification techniques for important environmental contaminants in milk and dairy products. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 98, p. 79–94, 2018.

SANTOS, L. M. G. Estudos de diferentes técnicas da espectrometria de absorção atômica na determinação de elementos inorgânicos em matrizes de interesse sanitário. **Tese**, p. 126, 2009.

SILVA, J. B. B. DA et al. Iridium and Rhodium as Permanent Chemical Modifiers for the Determination of Ag, As, Bi, Cd, and Sb by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 60, n. 3, p. 249–257, 1998.

SNEDDON, J.; FARAH, K. S. Investigation of chemical modification in the simultaneous graphite furnace atomic absorption spectrometry detection of arsenic, cadmium, lead, and selenium. **Spectroscopy Letters**, v. 27, n. 2, p. 257–267, 1994.

SOARES, V. A. et al. Determination of nutritional and toxic elements in pasteurized bovine milk from Vale do Paraíba region (Brazil). **Food Control**, v. 21, n. 1, p. 45–49, 2010.

TINAS, H.; OZBEK, N.; AKMAN, S. Direct solid sampling determination of lead in cheese varieties by high resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Methods**, v. 9, n. 45, p. 6365–6370, 2017.

TSALEV, D. L. et al. Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry - advances, anticipations and reality. **Spectrochimica acta, Part B: Atomic spectroscopy**, v. 55, n. 5, p. 473–490, 2000.

VELOSO, R. W. et al. Seasonal impacts on arsenic mobility and geochemistry in streams surrounding a gold mineralization area, Paracatu, Brazil. **Applied Geochemistry**, v. 109, n. August, p. 104390, 2019.

VIITAK, A.; VOLYNSKY, A. B. Simple procedure for the determination of Cd, Pb, As and Se in biological samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using colloidal Pd modifier. **Talanta**, v. 70, n. 4, p. 890–895, 2006.

VOLYNSKY, A. B. Mechanisms of action of platinum group modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica acta, Part B: Atomic spectroscopy**, v. 55, n. 2, p. 103–150, 2000.

VOLYNSKY, A. B. Comparative efficacy of platinum group metal modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 59, n. 12, p. 1799–1821, 2004.

WANG, H. et al. Switchable hydrophilicity solvent based and solidification-assisted liquid-phase microextraction combined with GFAAS for quantification of trace soluble lead in raw bovine and derivative milk products. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 36, n. 11, p. 1654–1666, 2019.

WELSH, J. A. et al. Production-related contaminants (pesticides, antibiotics and hormones) in organic and conventionally produced milk samples sold in the USA. **Public Health Nutrition**, v. 22, n. 16, p. 2972–2980, 2019.

WELZ, B. S. M. **Atomic Absorption Spectrometry: Third, Completely Revised Edition**. Germany: Wiley-VCH, 1999.

WHO. **World Health Organization. Arsenic**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>>. Acesso em: 21 out. 2020.

YAN, X. P.; NI, Z. M. Kinetic studies on the mechanism of atomization in electrothermal atomic absorption spectrometry with and without chemical modifiers. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 370, n. 8, p. 1052–1060, 2001.

YU, H. S.; LEE, C. H.; CHEN, G. S. Peripheral vascular diseases resulting from chronic arsenical poisoning. **Journal of Dermatology**, v. 29, n. 3, p. 123–130, 2002.

ZHURAVLEV, A. et al. Direct atomic absorption spectrometry determination of arsenic, cadmium, copper, manganese, lead and zinc in vegetable oil and fat samples with graphite filter furnace atomizer. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 38, p. 62–68, 2015.

ZMOZINSKI, A. V. et al. Direct solid sample analysis with graphite furnace atomic absorption spectrometry - A fast and reliable screening procedure for the determination of inorganic arsenic in fish and seafood. **Talanta**, v. 134, p. 224–231, 2015.