

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Gabriella Alexandre Borges

**Desenvolvimento de um método empregando HPLC-HG-AFS para especificação de arsênio em arroz e uso de hidróxido duplo lamelar incorporado com nitroprussiato para adsorção de arsênio**

BELO HORIZONTE

2020

UFMG/ICEX/DQ. 1405

T. 638

Gabriella Alexandre Borges

**Desenvolvimento de um método empregando HPLC-HG-AFS para especificação de arsênio em arroz e uso de hidróxido duplo lamelar incorporado com nitroprussiato para adsorção de arsênio**

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências – Química.

Orientador: Prof. Guilherme Dias Rodrigues

Coorientadora: Profa. Virginia S. T. Ciminelli

BELO HORIZONTE

2020

Ficha Catalográfica

B732d Borges, Gabriella Alexandre  
2020 Desenvolvimento de um método empregando HPLC-HG-AFS  
T para especiação de arsênio em arroz e uso de hidróxido  
duplo lamelar incorporado com nitroprussiato para  
adsorção de arsênio [manuscrito] / Gabriella Alexandre  
Borges. 2020.

[xviii], 130 f. : il.

Orientador: Guilherme Dias Rodrigues.

Coorientadora: Virginia Sampaio Teixeira Ciminelli.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas  
Gerais - Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Química analítica - Teses. 2. Resíduos de  
arsênio - Teses. 3. Arroz - Teses. 4. Arsênio -  
Especiação química - Teses. 5. Adsorção - Teses. 6.  
Cromatografia líquida de alta eficiência - Teses. 7.  
Espectrometria de Fluorescência - Teses. I. Rodrigues,  
Guilherme Dias, Orientador. II. Ciminelli, Virginia  
Sampaio Teixeira, Coorientadora. III. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



**"Desenvolvimento de um Método Empregando HPLC-HG- AFS para Especificação de Arsênio em Arroz e Uso de Hidróxido Duplo Lamelar Incorporado com Nitroprussiato para Adsorção de Arsênio"**

**Gabriella Alexandre Borges**

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Guilherme Dias Rodrigues - Orientador  
UFMG

Prof. Carlos Roberto Bellato  
UFV

Prof. Leandro Rodrigues de Lemos  
UFVJM

Profa. Clésia Cristina Nascentes  
UFMG

Profa. Mariana Ramos de Almeida  
UFMG

Belo Horizonte, 03 de agosto de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Dias Rodrigues, Professor do Magistério Superior**, em 03/08/2020, às 17:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Clesia Cristina Nascentes, Professora do Magistério Superior**, em 03/08/2020, às 17:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mariana Ramos de Almeida, Professora do Magistério Superior**, em 03/08/2020, às 17:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Rodrigues de Lemos, Usuário Externo**, em 03/08/2020, às 17:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carlos Roberto Bellato, Usuário Externo**, em 03/08/2020, às 18:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0197445** e o código CRC **27328C48**.

## AGRADECIMENTO

À Deus, por ter iluminado a minha trajetória.

Ao Rodrigo, por ser meu maior incentivador. Obrigada meu amor por todo o seu apoio, paciência e por acreditar em mim!

Ao meu filho Mateus, por trazer um novo sentido para a minha vida, por me ensinar que não existe amor maior e que não existe cansaço que não passe com o seu sorriso!

Aos meus pais por todos os ensinamentos e pelo grande apoio.

Ao meu orientador Prof. Dr. Guilherme Dias Rodrigues e aos meus orientadores de coração que me acolheram na UFOP Profa. Dra. Aparecida Barbosa Mageste e Prof. Dr. Gabriel Max Dias Ferreira, por todos os ensinamentos, pela confiança e pelo incentivo sempre.

Aos meus colegas do LASAV e do DQ, Alberto, Daniela, Pablo, Roberta, Junielly, Louise, Karen e Leandro, pela amizade, por me ajudarem sempre, pelo companheirismo e apoio.

Aos meus colegas do Laboratório de Físico-Química e Química Ambiental, em especial ao Keirom que muito me ajudou na realização dos experimentos, a Silvia por toda a dedicação e ajuda, ao Matheus, Melany, Bia, Lohayne, Jussara, Tomás, Heyder, Laryssa e Vitorino que muito me apoiaram e contribuíram para alegrar muito os meus dias no laboratório.

Aos diretores e colegas de trabalho do IFMG campus Ouro Preto, por terem me concedido o afastamento para concluir esse trabalho e pelo grande apoio que me deram.

As agências de fomento CNPQ, CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho.

## RESUMO

A contaminação por arsênio em alimentos e na água potável tem despertado preocupação mundial devido aos efeitos tóxicos dessa substância ao organismo humano. No capítulo 2 este trabalho desenvolveu um método para determinação e especiação das formas inorgânicas e orgânicas de arsênio mais comumente presente em amostras de arroz: arsenato As(V), arsenito As(III), ácido monometilarsônico (MMA) e ácido dimetilarsínico (DMA), utilizando a técnica Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Hidretos (HPLC-HG-AFS). A melhor resolução cromatográfica foi obtida em pH 6,2, fase móvel com concentração 20 mmol L<sup>-1</sup> e fluxo 0,57 mL min<sup>-1</sup>, HCl 5,55 % v/v e NaBH<sub>4</sub> 0,90 % m/v. A veracidade do método foi confirmada por meio dos baixos valores obtidos de erro relativo quando aplicado em um material de referência certificado (NIST 1568b): As inorgânico total 6,63%, DMA 3,44%, MMA 0% e As total 0,53%. Em testes de recuperação o método proposto mostrou-se promissor como mostram as faixas de recuperação obtidas para as amostras de arroz A (100,8%) e H (102,1%). No capítulo 3 este trabalho apresentou um procedimento inédito para remoção das espécies As (III), As (V) e DMA de águas usando hidróxido duplo lamelar incorporado com nitroprussiato (HDL-NP). O material se mostrou seletivo para as espécies de arsênio em função do pH. Foi observado que em pH 2,00 todo o As (V) é adsorvido e parte do DMA (25%). Em pH 6,02 e 12,00 somente As (III) e As (V) são adsorvidos sendo maior o potencial para adsorção do As (V). Diante disso, foi feito o estudo das isotermas de adsorção para o As (V) no qual o modelo de Langmuir forneceu melhor ajuste em pH 2,00 e 6,02 ( $R^2 = 0,9996$  e  $0,9501$ ) e o valor máximo da capacidade de adsorção ( $q_{\text{máx}}$  77,63 e 18,84 mg g<sup>-1</sup>) foi próximo do valor experimental (76,9 e 18,0 mg g<sup>-1</sup>), respectivamente. Em pH 12,00 o modelo de Freundlich forneceu melhor ajuste ( $R^2 = 0,9912$ ).

Em relação à cinética observa-se que o processo de adsorção é favorável pois o tempo para remoção do As (V) usando HDL-NP é baixo (menor que 30 minutos).

**Palavras-chave:** arsênio, arroz, especiação, adsorção.

## ABSTRACT

Arsenic contamination in food and potable water is of worldwide concern, due to the toxic effects of the substance in humans. Chapter 2 of this work describes the development of a method using high performance liquid chromatography coupled with hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HPLC-HG-AFS) for the determination and speciation of the inorganic and organic forms of arsenic most commonly found in rice samples: arsenate (As(V)), arsenite (As(III)), monomethylarsonic acid (MMA), and dimethylarsinic acid (DMA). The best chromatographic resolution was obtained at pH 6.2, using a mobile phase concentration of 20 mmol L<sup>-1</sup> and flow rate of 0.57 mL min<sup>-1</sup>, 5.55% v/v HCl, and 0.90% m/v NaBH<sub>4</sub>. The accuracy of the method was confirmed by the low relative error values obtained in analysis of a certified reference material (NIST 1568b): 6.63% total inorganic As, 3.44% DMA, 0% MMA, and 0.53% total As. The proposed method presented satisfactory recoveries of 100.8% and 102.1% for rice samples A and H, respectively. Chapter 3 describes a novel procedure for the removal of As(III), As(V), and DMA from water using a lamellar double hydroxide combined with nitroprusside (DLH-NP). The material was found to be selective for arsenic species, as a function of pH. At pH 2.00, all the As(V) was adsorbed, together with part of the DMA (25%). At pH 6.02 and pH 12.00, only As(III) and As(V) were adsorbed, with greater potential for the adsorption of As(V). For the adsorption of As(V) on LDH-NP at pH 2.00 and 6.02, the Langmuir model provided the best fit to the experimental data  $R^2 = 0.9996$  and  $0.9501$ , respectively. The maximum adsorption capacity ( $q_{max}$ ) (77.63 and 18.84 mg g<sup>-1</sup>) are in agreement with the value obtained experimentally (76.9 and 18.0 mg g<sup>-1</sup>), respectively. At pH 12.00, the Freundlich model provided the best fits, with  $R^2$  values of 0.9912. The kinetics of

the process showed that the adsorption was favorable as the time for removing As (V) using LDH-NP is low (less than 30 minutes).

**Keywords:** arsenic, rice, speciation, adsorption.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Estrutura do Grão de Arroz. Fonte: Vieira e Rabelo, 2006	8
<b>Figura 2</b>	Consumo per capita de arroz. Fonte: Ferreira et al./ ageitec	9
<b>Figura 3</b>	Balanco de oferta e demanda dos principais países produtores em milhões de toneladas de arroz.	10
<b>Figura 4</b>	Os 5 maiores produtores nacionais de arroz. Fonte Conab – Levantamento em maio de 2015	11
<b>Figura 5</b>	Estimativa da produção, consumo e importação de arroz no Brasil nos próximos anos. Fonte: AGE/Mapa e SGE/Embrapa, 2015	12
<b>Figura 6</b>	Produção de arroz nas microrregiões do Brasil em 2006. Fonte: Ageitec (Adaptada de IBGE 2008)	13
<b>Figura 7</b>	Representação geral esquemática de um sistema HPLC-HG-AFS. Chen e Belzile, 2010 (a) e foto do equipamento utilizado nesse trabalho (b). (1) bomba do HPLC e injeção (2) coluna de guard (opcional) (3) coluna do HPLC (4) bomba peristáltica para oxidação (opcional) (5) sistema UV de foto-oxidação (opcional) (6) sistema de digestão por micro-ondas (opcional) (7) bomba peristáltica para o agente redutor (8) câmara de reação (9) separador gás-liquido (10) fluxo de gás (Ar) (11) tubo de drenagem (12) detector	20
<b>Figura 8</b>	Procedimento experimental de extração para especiação de arsênio em HPLC-HG-AFS	26
<b>Figura 9</b>	Separação cromatográfica das quatro espécies de arsênio em estudo (10 ppb de cada espécie em solução aquosa contendo $\text{HNO}_3$ $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ )	30
<b>Figura 10</b>	Cromatograma obtido do padrão das espécies de arsênio 10 ppb em ácido nítrico para diferentes valores de pH (fase móvel $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ $20 \text{ mmol L}^{-1}$ com vazão $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ , $\text{HCl}$ 5,6 % (v/v), $\text{NaBH}_4$ 0,9 % (m/v) em $\text{NaOH}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ )	33
<b>Figura 11</b>	Cromatograma obtido do padrão das espécies de arsênio 10 ppb em ácido nítrico para diferentes valores de concentração da fase móvel (pH 6,2; vazão da fase móvel $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ , $\text{HCl}$ 5,6 % (v/v), $\text{NaBH}_4$ 0,9 % (m/v) em $\text{NaOH}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ )	36
<b>Figura 12</b>	Cromatograma obtido do padrão das espécies de arsênio 10 ppb em ácido nítrico para diferentes valores de vazão da fase móvel	38

(pH 6,2; concentração da fase móvel 20 mmol L<sup>-1</sup>, HCl 5,6 % (v/v), NaBH<sub>4</sub> 0,9 % (m/v) em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>)

- Figura 13** Cromatograma obtido do padrão das espécies de arsênio 10 ppb em ácido nítrico para diferentes valores de concentração de HCl, (pH 6,2; concentração da fase móvel 20 mmol L<sup>-1</sup>, vazão da fase móvel 0,57 mL min<sup>-1</sup>, NaBH<sub>4</sub> 0,9 % (m/v) em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>) 41
- Figura 14** Cromatograma obtido do padrão das espécies de arsênio 10 ppb em ácido nítrico para diferentes valores de concentração de NaBH<sub>4</sub> em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,2; concentração da fase móvel 20 mmol L<sup>-1</sup>, vazão da fase móvel 0,57 mL min<sup>-1</sup>, HCl 5,6 (% v/v)) 43
- Figura 15** Estudo da linearidade para cada espécie de arsênio 47
- Figura 16** Curvas analíticas de calibração externa para cada espécie de arsênio em ácido nítrico (a) e curvas de calibração feitas utilizando-se os extratos das amostras desconhecidas fortificadas com padrões em ácido nítrico (b). 49
- Figura 17** Determinação do teor de As no NIST 1568b Rice Flour 53
- Figura 18** Representação estrutural das espécies de arsênio estudadas e do nitroprussiato 73
- Figura 19** Padrões de DRX em pó para (a) Mg-Al-HDL (linha azul) e Mg-Al-HDL-NP (linha preta); (b) Mg-Al-HDL-NP antes (linha preta) e após a remoção de As (V) em meio ácido, pH 2,00 (linha vermelha) e meio básico, pH 12,00 (linha verde) 80
- Figura 20** a) Imagem MET de alta resolução para os materiais HDL-NP com espaçamentos interplanares de 10,3 Å, que estão relacionados aos (003) planos do grupo espacial romboédrico (R3̄m). Inserções: imagem MET de baixa ampliação (canto superior direito) e padrão SAED (canto inferior direito) evidenciando o caráter policristalino da amostra; b) Espectros EDS e EELS com as energias eletrônicas dos íons presentes na estrutura: os sinais de Mg, Al e Fe são mostrados no espectro EDS, enquanto os sinais C, N, O e Fe são mostrados no espectro EELS. 84
- Figura 21** a) Imagem MET de alta resolução para os materiais HDL-NP saturados com As (V) em pH = 2,00, exibindo espaçamentos interplanares de 10,6 Å, que estão relacionados aos (003) planos do grupo espacial romboédrico (R3̄m). Inserções: imagem MET de baixa ampliação (canto superior esquerdo) e padrão SAED (canto inferior direito) para a amostra de HDL-NP policristalina; b) Espectros EDS e EELS com as energias eletrônicas dos íons 87

presentes na estrutura. Observe os sinais de íons As (Ka e Kb) observados no espectro EDS.

- Figura 22** a) Imagem MET de alta resolução para os materiais HDL-NP saturados com As (V) em pH = 12,00, exibindo espaçamentos interplanares de 10,0 Å, que estão relacionados aos planos (003). Inserções: imagem MET de baixa ampliação (canto superior esquerdo) e padrão SAED (canto superior direito) mostrando a natureza policristalina da amostra de HDL-NP; b) Espectros EDS e EELS com as energias eletrônicas dos íons presentes na estrutura. Além disso, observe os sinais de íons As (Ka e Kb) observados no espectro EDS. 89
- Figura 23** Curvas termogravimétricas TG (linhas pretas) e suas derivadas DTG (linhas azuis) para o HDL intercalado com nitroprussiato (a), e para o material após a remoção de As (V) em meio ácido (b), e meio básico (c) 91
- Figura 24** Espectro de infravermelho (FTIR) do HDL intercalado com nitroprussiato (linha preta) e do material após a adsorção de arsênio em meio ácido (linha vermelha) e meio básico (linha verde). A posição das bandas principais foi identificada na figura 93
- Figura 25** Espectro Raman do HDL intercalado com nitroprussiato (linha preta), e do material após adsorção de As (V) em meio ácido (linha vermelha) e meio básico (linha verde). A inserção mostra os modos relacionados às vibrações equatoriais e axiais do grupo C–N 95
- Figura 26** Comparação da porcentagem de extração do As (III), As (V) e DMA utilizando HDL conv e HDL-NP em função do pH (temperatura 25 °C, velocidade de agitação 150 rpm, tempo de contato 24 horas, concentração de As 10 mg L<sup>-1</sup> e concentração do adsorvente 1,33 g 97
- Figura 27** Porcentagens de extração de (■) As (III), (●) As (V) e (▲) DMA em função da concentração inicial de As (à esquerda) e isotermas de adsorção de (■) As (III), (●) As (V) e (▲) DMA (à direita) em HDL-NP (1,33 mg L<sup>-1</sup>). T = 25 °C, 150 rpm, (a) pH 2,00, (b) pH 6,02 e (c) pH 12,00 100
- Figura 28** Curva de ΔpH versus pH<sub>inicial</sub> para determinação do ponto de carga zero (PCZ) do HDL-NP. 103
- Figura 29** Ajuste dos modelos de Langmuir (a) e Freundlich (b) para As (V) em pH 2,00; pH 6,02 e pH 12,00 104

**Figura 30** Adsorção de As (V) com concentração inicial  $20 \text{ mg L}^{-1}$  em função do tempo em HDL-NP em pH 2,00; 6,02 e 12,00 (temperatura  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , velocidade de agitação 150 rpm, concentração do adsorvente  $1,33 \text{ mg L}^{-1}$ ) 106

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Fórmulas estruturais das principais espécies de As descritas na literatura	3
<b>Tabela 2</b>	Limites máximos tolerados (LMT) de arsênio inorgânico em alimentos infantis	14
<b>Tabela 3</b>	Programa de aquecimento para digestão das amostras de arroz em micro-ondas	27
<b>Tabela 4</b>	Cálculo da resolução em função do pH (padrão das espécies de arsênio 10 ppb em nítrico, fase móvel $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 20 $\text{mmol L}^{-1}$ com vazão $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ , HCl 5,6 % (v/v), $\text{NaBH}_4$ 0,9 % (m/v) em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ )	33
<b>Tabela 5</b>	Cálculo da resolução em função da concentração da fase móvel (padrão das espécies de arsênio 10 ppb em nítrico, pH 6,2, vazão da fase móvel $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ , HCl 5,6 % (v/v), $\text{NaBH}_4$ 0,9 % (m/v) em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ )	36
<b>Tabela 6</b>	Cálculo da resolução em função da vazão da fase móvel (padrão das espécies de arsênio 10 ppb em nítrico, pH 6,2, fase móvel $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 20 $\text{mmol L}^{-1}$ , HCl 5,6 % (v/v), $\text{NaBH}_4$ 0,9 % (m/v) em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ )	39
<b>Tabela 7</b>	Cálculo da resolução em função da concentração de HCl (padrão das espécies de arsênio 10 ppb em nítrico, pH 6,2, fase móvel $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 20 $\text{mmol L}^{-1}$ com vazão $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ , $\text{NaBH}_4$ 0,9 % (m/v) em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ )	42
<b>Tabela 8</b>	Cálculo da resolução em função da concentração de $\text{NaBH}_4$ (padrão das espécies de arsênio 10 ppb em nítrico, pH 6,2, fase móvel $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 20 $\text{mmol L}^{-1}$ com vazão $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ , HCl 5,6% (v/v))	44
<b>Tabela 9</b>	Principais figuras de mérito do método proposto	45
<b>Tabela 10</b>	Investigação da linearidade do método	46
<b>Tabela 11</b>	Comparação dos desvios-padrão com o teste F.	50
<b>Tabela 12</b>	Comparação dos coeficientes angulares com o teste t.	51
<b>Tabela 13</b>	Estudo da precisão	51

<b>Tabela 14</b>	Avaliação da exatidão do método	52
<b>Tabela 15</b>	Especiação de arsênio via HPLC-HG-AFS e comparação do teor de As total via análise no ICP-MS	57
<b>Tabela 16</b>	Características dos reagentes utilizados	73
<b>Tabela 17</b>	Parâmetros de rede, espaço basal e tamanho do cristalito para o HDL	81
<b>Tabela 18</b>	Valores encontrados para o ajuste dos modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich (25 °C; 0,0200 g de adsorvente)	105

## LISTA DE ABREVIACÕES

- Ageitec** – Agência Embrapa de Informação Tecnológica
- ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- iAs** – Arsênio inorgânico
- C<sub>e</sub>** – Concentração de equilíbrio
- CV** – Coeficiente de Variação
- DPR** – Desvio Padrão Relativo
- EMBRAPA** – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- EFSA** – *European Food Safety Authority*
- FAO** – Food and Agriculture Organization of the United Nations
- FDA** – Food and Drug Administration
- HDL** – Hidróxido duplo lamelar
- IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- INMETRO** – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
- JECFA** – Expert Committee on Food Additives (FAO/ WHO)
- LD** – Limite de detecção
- LMT** – Limites Máximos Tolerados
- LQ** – Limite de Quantificação
- MAPA** – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- NPS** – nitroprussiato de sódio
- q<sub>e</sub>** – quantidade adsorvida no equilíbrio
- USEPA** – United States Environmental Protection Agency
- WHO** – World Health Organization

## SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIACÕES	xvi
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	1
1.1. Arsênio	2
1.2. Referências Bibliográficas	5
CAPÍTULO 2 – Especificação de arsênio em arroz empregando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Hidretos (HPLC-HG-AFS)	7
2.1. Introdução	8
2.1.1. Legislação	14
2.1.2. Referencial Teórico	16
2.1.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Hidretos (HPLC-HG-AFS)	19
2.2. Objetivos	23
2.2.1. Objetivo Geral	23
2.2.2. Objetivos Específicos	23
2.3. Experimental	23
2.3.1. Instrumentação	23
2.3.2. Reagentes	24
2.3.3. Amostragem	25
2.3.4. Procedimento de extração para especificação em HPLC-HG-AFS	25
2.3.5. Extração em microondas para determinação de arsênio total em ICP-MS	26
2.3.6. Procedimento para determinação dos principais parâmetros para validação do método	27
2.3.6.1. Limite de detecção (LD)	27
2.3.6.2. Limite de quantificação (LQ)	28
2.3.6.3. Efeito de matriz	28
2.3.6.4. Precisão	28
2.3.6.5. Veracidade	29
2.4. Resultados e Discussão	29
2.4.1. Otimização do método	31
2.4.1.1. Estudo do pH	32
2.4.1.2. Estudo da concentração da fase móvel	34
2.4.1.3. Estudo da vazão da fase móvel	37
2.4.1.4. Estudo da concentração de HCl	40
2.4.1.5. Estudo da concentração de NaBH <sub>4</sub>	43
2.4.2. Validação do método	45
2.4.2.1. Linearidade	46
2.4.2.2. Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)	48
2.4.2.3. Efeito de matriz	48

2.4.2.4. Precisão	51
2.4.2.5. Veracidade	52
2.4.2.6. Aplicação do método à amostras reais	54
2.5. Conclusão	58
2.6. Referências Bibliográficas	58
CAPÍTULO 3 – Uso de hidróxido duplo lamelar incorporado com nitroprussiato para adsorção de arsênio orgânico e inorgânico de matrizes aquosas	64
3.1. Introdução	65
3.1.1. O uso de Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL) para remoção de arsênio de águas	66
3.1.2. Adsorção	69
3.1.2.1. Isoterma de Langmuir	69
3.1.2.2. Isoterma de Freundlich	70
3.2. Objetivos	71
3.2.1. Objetivo geral	71
3.2.2. Objetivos específicos	71
3.3. Experimental	72
3.3.1. Instrumentação	72
3.3.2. Reagentes	72
3.3.3. Síntese e caracterização do hidróxido duplo lamelar (HDL)	73
3.3.3.1. Preparo do HDL Mg – Al – CO <sub>3</sub>	73
3.3.3.2. Preparo do hidróxido duplo lamelar Mg – Al – Fe(CN) <sub>5</sub> NO	74
3.3.4. Comparação do potencial de remoção do As entre o HDL convencional e HDL-NP	75
3.3.5. Isotermas de Adsorção	76
3.3.6. Estudo de cinética	76
3.3.7. Técnicas de caracterização dos HDLs	77
3.4. Resultados e Discussão	79
3.4.1. Caracterização do adsorvente	79
3.4.1.1. Difração de Raio X (DRX)	79
3.4.1.2. Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	83
3.4.1.3. Análise termogravimétrica	90
3.4.1.4. Espectroscopia na região do Infravermelho	93
3.4.1.5. Espectroscopia Raman	95
3.4.2. Avaliação do potencial de remoção do As	97
3.4.3. Isotermas de adsorção	99
3.4.4. Cinética de adsorção	105
3.5. Conclusão	107
3.6. Referências Bibliográficas	107
4. Anexos	
Artigo 1	111
Artigo 2	119

## **CAPÍTULO 1 – Introdução**

## 1.1. Arsênio

O arsênio é um elemento que está amplamente distribuído na crosta terrestre estando, geralmente, presente em baixas concentrações (Nearing *et al.*, 2014). É um dos constituintes de mais de 200 espécies minerais (EFSA Journal, 2014), dos quais 60 % são arsenatos, 20% são arsenosulfetos com metais como Fe, Pb, Cu, Ag e Tl e o restante se compõe de arsenitos, óxidos, arsenetos e arsênio elementar. O mineral mais comum é a arsenopirita (FeAsS). O arsênio é considerado um metalóide ou ametal por possuir características físico-químicas tanto de metais como de ametais.

A mobilização do arsênio no meio ambiente se deve a uma combinação de processos naturais (variações climáticas, atividade biológica, atividade vulcânica) (Nearing *et al.*, 2014), bem como atividades antropogênicas: emissão industrial (mineração, fundição de metais não ferrosos e / ou queima de combustíveis fósseis), fertilizantes, conservantes de madeira, inseticidas e herbicidas (Hughes *et al.*, 2011).

Todavia, uma das principais fontes de contaminação se deve à atividade de mineração. Isso porque o arsênio é encontrado sob a forma de sulfeto em uma grande variedade de minerais que contém cobre, chumbo, ferro, níquel, cobalto e outros metais (Fillol *et al.*, 2010). Na exploração de ouro, este elemento ocorre no mineral associado à arsenopirita. A reação seguinte (Eq. 1) apresenta a decomposição da arsenopirita (FeAsS):



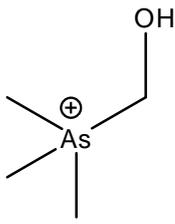
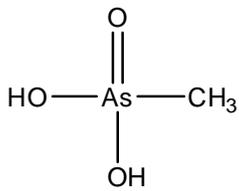
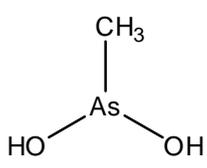
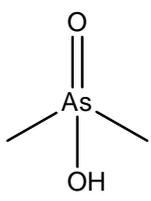
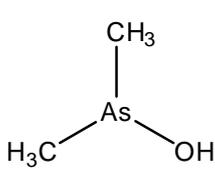
Assim, a atividade mineradora pode expor o arsênio ao ambiente, causando contaminação de alimentos pela translocação deste elemento através de lençóis freáticos e solos (Abdolmohammad-Zadeh e Talleb, 2014).

O arsênio pode ser encontrado naturalmente no ambiente em quatro estados de oxidação: As(V), As(III), As(0) e As(-III) (Shamsipur *et al.*, 2014) como é mostrado na Tabela 1. As

formas ácidas metiladas de arsênio, ácido monometilarsônico (MMA) e ácido dimetilarsínico (DMA) são pouco tóxicas (González-Martínez *et al.*, 2018), enquanto que a arsenobetaína (AsB) e arsenocolina (AsC) são relativamente não tóxicas (Liu *et al.*, 2013). No entanto, o arsênio é mais comumente encontrado como oxiânion em compostos inorgânicos nas formas As(III) (arsenito,  $\text{AsO}_3^{-3}$ ) e As(V) (arsenato,  $\text{AsO}_4^{-3}$ ) sendo que a forma trivalente é muito mais tóxica que a pentavalente (Kumarathilaka, *et al.*, 2018, Lewchalermvong *et al.*, 2018 e Shamsipur *et al.*, 2014).

**Tabela 1.** Fórmulas estruturais das principais espécies de As descritas na literatura. Adaptado de (Molin *et al.*, 2015) e (Souza *et al.*, 2015)

Nome	Símbolo	Estrutura Química	Comentário
Ácido Arsenoso (arsenito $\text{AsO}_3^{-3}$ )	As(III)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\   \\ \text{As} \\ / \quad \backslash \\ \text{HO} \quad \text{OH} \end{array}$	Muito tóxica e carcinogênica para humanos.
Ácido Arsênico (arsenato $\text{AsO}_4^{-3}$ )	As(V)	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{As} \\ / \quad   \quad \backslash \\ \text{HO} \quad \text{OH} \quad \text{OH} \end{array}$	Muito tóxica e carcinogênica para humanos. Forma majoritária em águas contaminadas.
Arsenobetaína	AsB	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{C}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{CH}_3 \quad \text{H}_2 \end{array}$	Considerada não tóxica e excretada na urina sem alteração. Forma majoritária em frutos do mar.

Arsenocolina	AsC		Considerada não tóxica.
Ácido monometilarsínico	MMA (V)		Classificado como possível carcinogênico para humanos. Forma minoritária em alimentos. Metabólito urinário do iAs.
Ácido monometilarsenoso	MMA (III)		Composto tóxico, mas não detectado em alimentos. Metabólito urinário do iAs.
Ácido dimetilarsínico	DMA (V)		Classificado como possível carcinogênico para humanos. Forma minoritária em alimentos. Metabólito urinário majoritário do iAs.
Ácido dimetilarsenoso	DMA (III)		Componente muito tóxico e reativo sendo difícil de detectar. Não detectado em alimentos mas presente como metabólito urinário do iAs.

---

iAs: arsênio inorgânico

Devido à sua alta toxicidade à saúde humana, os compostos inorgânicos de arsênio são classificados no Grupo I (carcinogênicos) pela Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer e, segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), estes compostos são os primeiros na lista de poluentes prioritários (Chen *et al.*, 2014).

A exposição humana a arsênio pode ocorrer de diferentes formas. Há a possibilidade de contaminação pela pele ou inalação (EFSA Journal, 2014), mas as principais formas de contaminação humana por arsênio são através da ingestão de água potável e alimentos contaminados (Abdolmohammad-Zadeh and Talleb, 2014). Uma vez absorvido, o iAs é extensivamente transformado para ser excretado via urina como DMA (EFSA Journal, 2014).

A exposição a longo prazo a altos níveis de arsênio está associada às taxas mais elevadas de câncer de pele, bexiga e pulmão, bem como a doenças cardíacas (US Food & Drug - FDA). Nesse contexto no qual a toxicidade do arsênio está relacionada com a forma química na qual ele se apresenta, é importante o desenvolvimento de métodos capazes de determinar seletivamente essas espécies (Chen *et al.*, 2018). Dessa forma, diante dos efeitos tóxicos provocados pela presença desse elemento no organismo humano, no capítulo 2 é feito o desenvolvimento e validação de um método analítico para a especiação de arsênio em amostras de arroz empregando HG-HPLC-AFS e, no capítulo 3, com a preocupação em desenvolver novos métodos de remoção de As do ambiente, minimizando seus impactos, propõe-se a utilização do hidróxido duplo lamelar (HDL) incorporado com nitroprussiato como um adsorvente seletivo para as espécies de arsênio.

## 1.2. Referências Bibliográficas

Abdolmohammad-Zadeh, H.; Talleb, Z. Speciation of As(III)/As(V) in water samples by a magnetic solid phase extraction based on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Mg-Al layered double hydroxide nano-hybrid followed by chemiluminescence detection. **Talanta**. 128 (2014) 147 – 155.

Chen, M. L.; Ma, L. Y.; Chen, X. W. New procedures for arsenic speciation: A review. **Talanta**. 125 (2014) 78 – 86.

Chen, H.; Tang, Z.; Wang, P.; Zhao, F. Geographical variations of cadmium and arsenic concentrations and arsenic speciation in Chinese rice. **Environmental Pollution**. 238 (2018) 482 – 490.

European Food Safety Authority, 2014. Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. **EFSA Journal** 12(3) (2014) 3597 – 3664.

Fillol, C., *et al.* Does arsenic in soil contribute to arsenic urinary concentrations in a French population living in a naturally arsenic contaminated area? **Science of the Total Environment**. 408 (23) (2010) 6011– 6016

González-Martínez, F.; Sánchez-Rodas, D.; Cáceres, D. D.; Martínez, M. F.; Quiñones, L. A.; Johnson-Restrepo, B. Arsenic exposure, profiles of urinary arsenic species, and polymorphism effects of glutathione-s-transferase and metallothioneins. **Chemosphere**. 212 (2018) 927 – 936.

Hughes, M. F.; Beck, B. D.; Chen, Y.; Lewis, A. S.; Thomas, D. J. Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. **Toxicological Sciences**. 123 (2011) 305 – 332.

Kumarathilaka, P.; Seneweera, S.; Meharg, A.; Bundschuh, J. Arsenic speciation dynamics in paddy rice soil-water environment: sources, physico-chemical, and biological factors - A review. **Water Research**. 140 (2018) 403 – 414.

Lewchalermvong, K.; Rangkadilok, N.; Nookabkaew, S.; Suriyo, T.; Satayavivad, J. Arsenic Speciation and Accumulation in Selected Organs after Oral Administration of Rice Extracts in Wistar Rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 66 (2018) 3199 – 3209.

Molin, M. *et al.* Arsenic in the human food chain, biotransformation and toxicology - Review focusing on seafood arsenic. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. 31 (2015) 249 – 259.

Nearing, M. M.; Koch, I.; Reimer, K. J. Complementary arsenic speciation methods: A review. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**. 99 (2014) 150 – 162.

Shamsipur, M. *et al.* Speciation of As (III) and As (V) in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after solid phase extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic drop. **Talanta**. 130 (2014) 26 – 32.

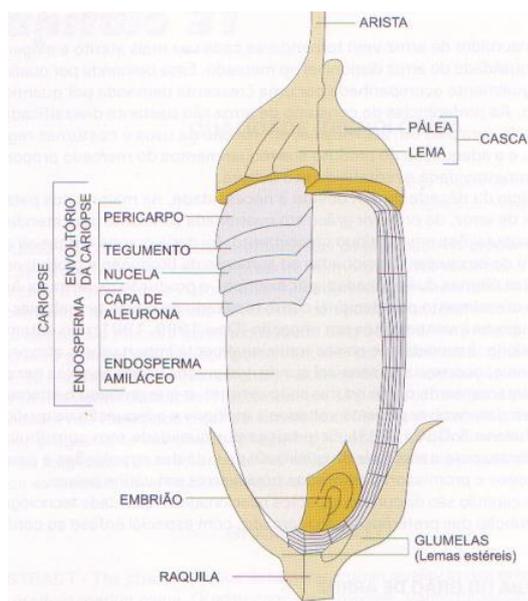
Souza, J. M. O. *et al.* Arsênio e arroz: toxicidade, metabolismo e segurança alimentar. **Química Nova**. 38 (1) (2015) 118 – 127.

US Food & Drug - FDA. Arsenic in Rice and Rice Products. Disponível em <<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm319870.htm>>. Acesso em 08/01/2017.

**CAPÍTULO 2 - Especificação de arsênio em arroz empregando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos (HPLC-HG-AFS)**

## 2.1. Introdução

O arroz é um cereal originado da *Oryza sativa L.*, uma monocotiledônea da família das *Poaceae* (gramíneas) (Gomes e Magalhães Júnior, 2004). Sua estrutura (Figura 1), da parte mais externa para a parte mais interna é constituída de: casca, camada protetora constituída de duas folhas modificadas (pálea e lema), o farelo, constituído de pericarpo, tegumento, nucela e capa de aleurona, o endosperma, rico em amido e proteína, e o embrião localizado na base do grão, rico em proteínas e lipídios (Walter *et al.*, 2008).



**Figura 1.** Estrutura do Grão de Arroz. Fonte: Vieira e Rabelo, 2006

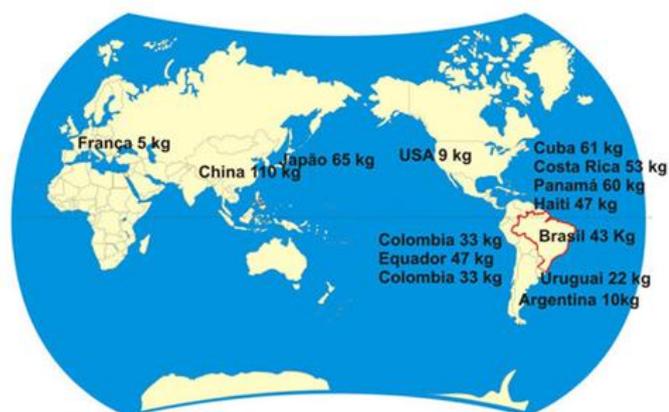
Após a colheita, os grãos podem sofrer diferentes tipos de beneficiamento dando origem aos diferentes tipos de arroz que encontramos no mercado.

Arroz Polido: Passa pelo processo de polimento que consiste na retirada da parte que recobre o grão que vai do pericarpo até a aleurona (também chamado farelo) (Souza *et al.*, 2015).

Arroz Integral (ou descascado): Somente a casca é retirada no processo de beneficiamento. A presença do farelo atribui a esse tipo de arroz um maior conteúdo de fibras, lipídios, vitaminas e minerais, e valor nutritivo superior ao branco polido (Hunt; Johnson; Juliano, 2002).

Arroz Parboilizado: Submetido ao processo de parboilização no qual o arroz com casca é imerso em água a uma temperatura acima de 58 °C. Nesse processo, o grão absorve nutrientes da casca como vitaminas e minerais aumentando o valor nutritivo desse arroz em relação ao polido. O arroz parboilizado é disponibilizado na forma de parboilizado polido e parboilizado integral (BRASIL, 2009; Souza *et al.*, 2015).

O arroz é um importante componente da dieta de vários países sendo considerado produto de importância econômica, alimentar e nutricional para a maioria da população mundial. Isso devido ao seu grande valor energético, além de fazer parte do hábito alimentar da nossa população. Segundo dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), o arroz é cultivado e consumido em todos os continentes do mundo e, em 2013, ocupou o segundo lugar em termos de extensão de área cultivada, sendo superado apenas pelo trigo (da Silva / ageitec). A Figura 2 mostra o alto consumo do arroz em diversos países. Países asiáticos tem um consumo per capita superior a 100 kg/ano. O Brasil tem um consumo no modelo dos países subtropicais (entre 35 e 65 kg/ano) estimado em 45 kg/ano.



**Figura 2.** Consumo per capita de arroz. Fonte: Ferreira *et al.*/ ageitec

Mais de 70% do total de arroz consumido no Brasil ainda é do tipo branco polido seguido do parboilizado (cerca de 25%) ficando o arroz integral com 3 a 4% (ELIAS *et al.*, 2012).

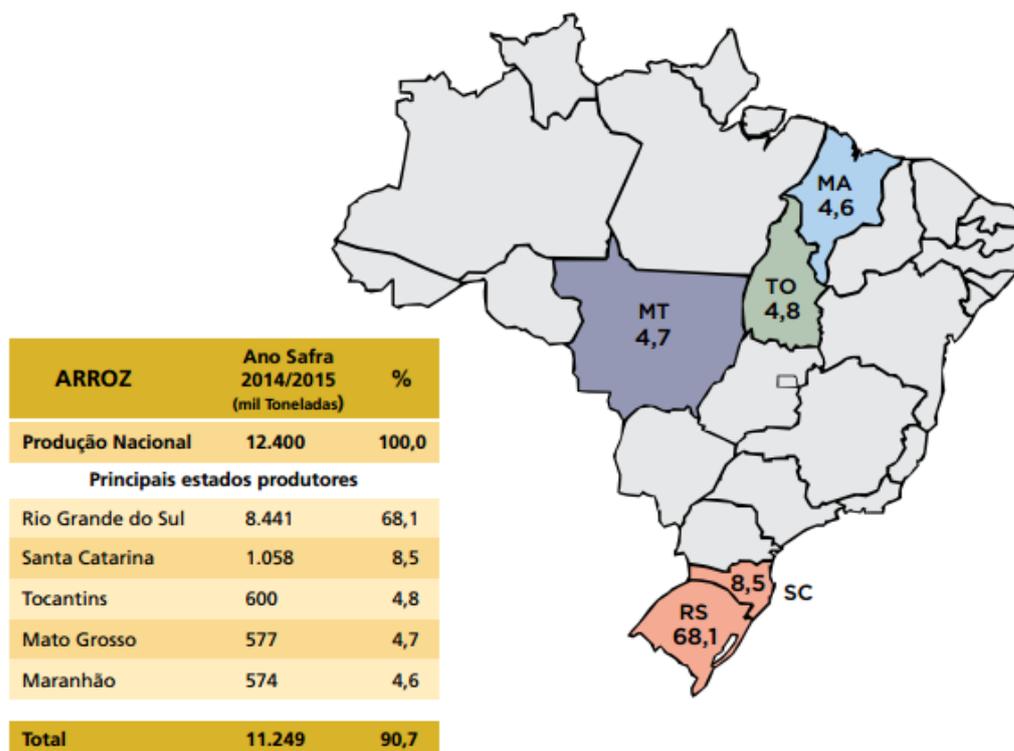
A Figura 3 apresenta dados importantes relacionados à safra de 2016/17, estimativa de 2017/18 e previsão para 2018/19 de produção/consumo/importação/exportação de arroz dos principais países produtores.

SAFRA	EVENTOS	PRODUTORES		EXPORTADORES			MUNDO	BRASIL
		CHINA	ÍNDIA	TAILÂNDIA	VIETNÃ	EUA		
2016/17	1-Estoque inicial	88,00	18,40	8,40	1,56	1,48	142,58	0,31
	<b>2-Produção</b>	<b>147,77</b>	<b>109,70</b>	<b>19,20</b>	<b>27,40</b>	<b>7,12</b>	<b>490,94</b>	<b>8,38</b>
	3-Importação	5,30	0,00	0,25	0,50	0,75	41,21	0,61
	4-Suprimento total (1+2+3)	241,07	128,10	27,85	29,46	9,35	674,73	9,30
	5-Consumo	141,76	95,84	12,00	22,00	4,23	483,55	7,95
	<b>6-Exportação</b>	<b>0,81</b>	<b>11,71</b>	<b>11,62</b>	<b>6,49</b>	<b>3,65</b>	<b>47,19</b>	<b>0,83</b>
	7-Demanda total (5+6)	142,57	107,55	23,62	28,49	7,88	530,74	8,78
	8-Estoque final (4-7)	98,50	20,55	4,24	0,97	1,46	149,97	0,53
	<b>9- Relação estoque X consumo</b>	<b>69,48</b>	<b>21,44</b>	<b>35,33</b>	<b>4,41</b>	<b>34,52</b>	<b>31,01</b>	<b>6,67</b>
2017/18 (Estimativa)	1-Estoque inicial	98,50	20,55	4,24	0,97	1,46	149,97	0,53
	<b>2-Produção</b>	<b>148,87</b>	<b>112,91</b>	<b>20,37</b>	<b>28,47</b>	<b>5,66</b>	<b>495,37</b>	<b>8,21</b>
	3-Importação	5,50	0,00	0,25	0,40	0,85	46,89	0,50
	4-Suprimento total (1+2+3)	252,87	133,46	24,86	29,84	7,97	692,23	9,24
	5-Consumo	142,49	98,82	10,60	22,00	4,28	482,74	7,75
	<b>6-Exportação</b>	<b>1,39</b>	<b>12,04</b>	<b>11,06</b>	<b>6,59</b>	<b>2,76</b>	<b>47,13</b>	<b>1,15</b>
	7-Demanda total (5+6)	143,88	110,86	21,66	28,59	7,04	529,87	8,90
	8-Estoque final (4-7)	109,00	22,60	3,20	1,25	0,93	162,60	0,33
	<b>9- Relação estoque X consumo</b>	<b>76,50</b>	<b>22,87</b>	<b>30,19</b>	<b>5,68</b>	<b>21,73</b>	<b>33,68</b>	<b>4,26</b>
2018/19 (Previsão)	1-Estoque inicial	109,00	22,60	3,20	1,25	0,93	162,60	0,33
	<b>2-Produção</b>	<b>148,49</b>	<b>116,00</b>	<b>20,70</b>	<b>29,07</b>	<b>7,12</b>	<b>501,57</b>	<b>7,48</b>
	3-Importação	4,50	0,00	0,25	0,40	0,92	44,61	0,85
	4-Suprimento total (1+2+3)	261,99	138,60	24,15	30,72	8,97	708,78	8,66
	5-Consumo	143,79	101,10	10,50	22,20	4,29	491,97	7,70
	<b>6-Exportação</b>	<b>2,20</b>	<b>12,50</b>	<b>10,00</b>	<b>7,00</b>	<b>3,11</b>	<b>47,37</b>	<b>0,70</b>
	7-Demanda total (5+6)	143,50	113,60	20,50	29,20	7,40	539,34	8,40
	8-Estoque final (4-7)	116,00	25,00	3,65	1,52	1,58	172,19	0,26
	<b>9- Relação estoque X consumo</b>	<b>80,67</b>	<b>24,73</b>	<b>34,76</b>	<b>6,85</b>	<b>36,83</b>	<b>35,00</b>	<b>3,38</b>

**Figura 3.** Balanço de oferta e demanda dos principais países produtores em milhões de toneladas de arroz (Junior, 2019)

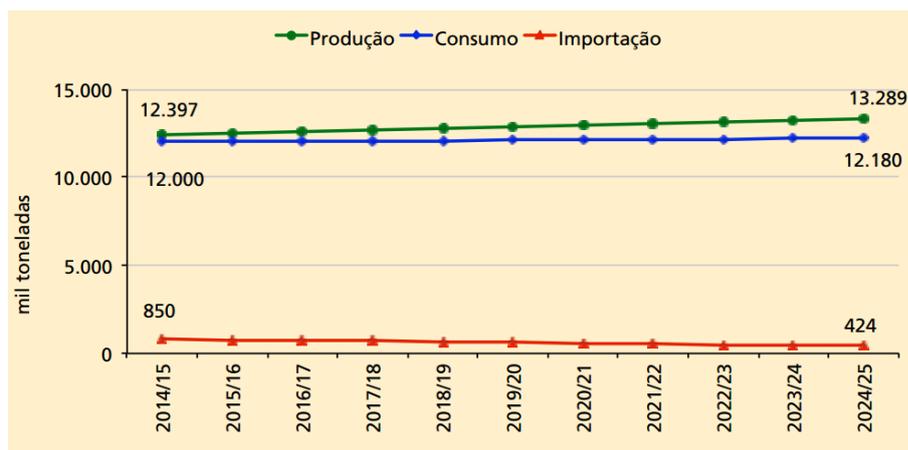
Os dados apresentados na Figura 3 confirmam o alto consumo mundial desse grão. Observa-se que os países asiáticos são os maiores produtores e a estimativa de produção mundial para 2018/19 foi de 501,57 milhões de toneladas. O Brasil é o maior produtor não asiático (Gomes e Magalhães Júnior, 2004) e a sua produção em 2016 foi de 8,38 milhões de toneladas (Junior, 2019). Em 2018/19, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), a produção de arroz no Brasil foi prevista em 7,48 milhões de toneladas e a produção mundial de arroz base beneficiado foi prevista em 501,57 milhões de toneladas segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), representando uma expansão de 6,2 milhões de toneladas em relação à safra de 2017/18 (Junior, 2019).

Apesar da produção brasileira de arroz estar distribuída nas diversas regiões, pode-se considerar a existência de três pólos produtores: a região sul (com destaque para o maior produtor do país que é o Rio Grande do Sul), a região central (São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso) e o terceiro pólo, o estado do Maranhão. Destacam-se na Figura 4 os cinco maiores produtores nacionais com sua respectiva produção em 2014/2015.



**Figura 4.** Os 5 maiores produtores nacionais de arroz. Fonte Conab – Levantamento em maio de 2015.

Estima-se um aumento da produção nacional até 2024/25 para 13,3 milhões de toneladas equivalente à projeção do consumo nos próximos anos (MAPA e EMBRAPA, 2015) como é mostrado na Figura 5.

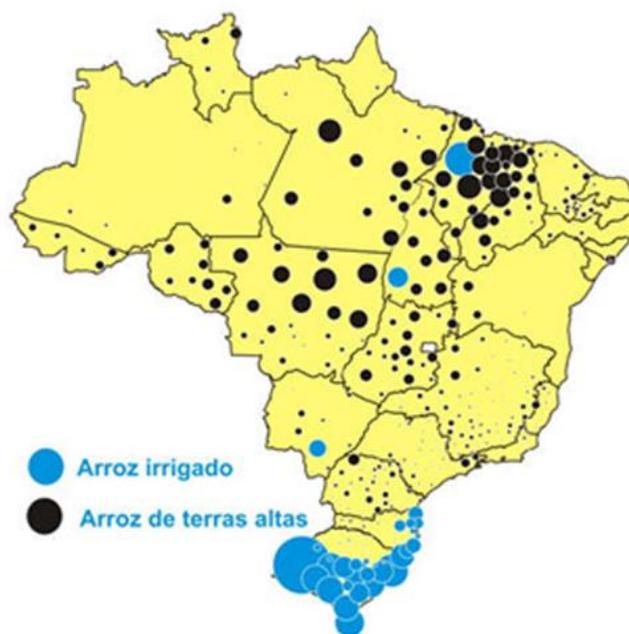


**Figura 5.** Estimativa da produção, consumo e importação de arroz no Brasil nos próximos anos.

Fonte: AGE/Mapa e SGE/Embrapa, 2015.

Em Minas Gerais, que já foi o maior produtor de arroz do Brasil na década de sessenta (Pereira, 2002), existem aproximadamente 280 municípios que cultivam arroz dentre os quais se destacam: Aimorés, Heliadora, Careçu, Arcos e Piranguçu, segundo o IBGE. Nestes municípios predomina o cultivo irrigado, o que possibilita uma produtividade média de 5.100kg/ha (IBGE, 2015).

Há dois tipos de cultivo de arroz: o arroz de terras altas (sequeiro, sem solo inundado) e o arroz irrigado tradicional (solos inundados, com lâmina de água), responsável pela maior parte da produção nacional. A Figura 6 mostra a distribuição desses diferentes tipos de plantio no Brasil.



**Figura 6.** Produção de arroz nas microrregiões do Brasil em 2006. Fonte: Ageitec (Adaptada de IBGE 2008).

Em regiões nas quais há o problema de contaminação dos solos, o cultivo de arroz irrigado (em solos inundados) torna-se preocupante. Isso porque contaminantes como o arsênio inorgânico, As (III) e As (V), com alta toxicidade, são muito solúveis em água. A presença da água faz com que essas espécies tenham maior mobilidade no solo, podendo ser absorvidas pelas raízes das plantas e chegar aos grãos. As raízes do arroz absorvem mais rapidamente As inorgânico (As (III) e As (V)) quando comparado à absorção de espécies orgânicas (DMA e MMA) e essa absorção ocorre através de transportadores de silicato (As (III)) e fosfato (As (V)), devido às similaridades na dimensão das moléculas (Abedin *et al.*, 2002).

Devido ao alto consumo de arroz já que ele faz parte da alimentação principal do brasileiro, esse alimento é considerado uma fonte significativa de contaminação por arsênio (JECFA, 2011).

### 2.1.1. Legislação

Diante dos efeitos tóxicos que a contaminação de alimentos com arsênio inorgânico pode causar, a sua presença em alimentos tornou-se uma preocupação de saúde pública reconhecida internacionalmente. Diversos órgãos estão em constante discussão sobre as concentrações de As seguras à saúde humana.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o limite máximo de arsênio tolerado em arroz e seus derivados é  $300 \mu\text{g kg}^{-1}$  (RESOLUÇÃO - RDC Nº 42, DE 29 DE AGOSTO DE 2013). A Tabela 2 abaixo mostra os Limites Máximos Tolerados (LMT) desse contaminante pela ANVISA para alimentos infantis.

**Tabela 2.** Limites máximos tolerados (LMT) de arsênio inorgânico em alimentos infantis

Categorias	LMT ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )
Alimentos à base de cereais para alimentação infantil	150
Alimentos de transição para lactentes e crianças de primeira infância	150
Fórmulas infantis para lactentes	20
Fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância	20
Fórmulas infantis para lactentes destinadas a necessidades dietoterápicas específicas	20
Fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância destinadas a necessidades dietoterápicas específicas	20
Fórmula pediátrica para nutrição enteral para lactentes e crianças de primeira infância	20
Outros alimentos especialmente formulados para lactentes e crianças de primeira infância	20

Fonte: Resolução da Diretoria Colegiada da Anvisa D.O.U. 21/06/2016

Como pode ser observado na Tabela 2, a regulamentação da ANVISA em relação ao limite aceitável de arsênio do ponto de vista toxicológico abrange apenas alimentos infantis, que são destinados a lactentes e crianças de primeira infância. Os limites máximos tolerados de arsênio nesses alimentos são rigorosos e baixos, devido à vulnerabilidade desta população aos efeitos nocivos dessas substâncias, cujo impacto afetarão seu desenvolvimento físico e cognitivo e serão sentidos por toda vida. Isso mostra a necessidade do desenvolvimento de métodos que sejam sensíveis e exatos para a determinação do teor de arsênio.

Em 2014 em Gênova, com o objetivo de garantir a saúde do consumidor, a UN Food and Agriculture Organization (FAO) juntamente com a World Health Organization (WHO), o *Codex Alimentarius* (FAO-WHO) estabeleceu padrões internacionais de segurança e qualidade de alimentos com o limite máximo permitido de arsênio em arroz de 0,200 mg/kg ou 200 ppb. As normas do Codex servem, em muitos casos, de base para a legislação nacional.

Em abril de 2016, a Food and Drug Administration (FDA) propôs um nível de ação, ou limite, de 100 partes por bilhão (ppb) de arsênico inorgânico em cereais infantis de arroz.

Para a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA – United States Environmental Protection Agency), o As inorgânico é a toxina número 1 na lista de poluentes prioritários e classificado como Grupo I – carcinogênico (Liu *et al.*, 2013).

Neste contexto, como a toxicidade deste elemento depende da forma química na qual ele se apresenta, é importante o desenvolvimento de métodos que sejam capazes de analisar cada espécie de arsênio nos alimentos para uma avaliação precisa de riscos (Narukawa *et al.*, 2014). Surge então a necessidade de estudos aprofundados sobre a especiação de arsênio em arroz.

### **2.1.2. Referencial teórico**

Nos últimos anos existe uma preocupação mundial a respeito da exposição humana ao arsênio. Inicialmente, essa exposição ocorria de forma mais significativa por ingestão de água. Nas regiões da Índia e Bangladesh, por exemplo, estima-se que 40 milhões de pessoas sofrem de sintomas relacionados à contaminação por arsênio, presente em altas concentrações nas águas do sul e sudeste asiático (Gault *et al.*, 2008). Hoje, há também a preocupação com a ingestão de alguns alimentos, sendo o arroz considerado uma das rotas majoritárias na exposição humana ao arsênio inorgânico, devido ao seu alto consumo (Banerjee *et al.*, 2013). O problema da alta concentração de arsênio nas águas subterrâneas das regiões sul e sudeste da Ásia atinge também o arroz, por ser utilizada na irrigação da plantação em épocas de estação seca e também para cozinhar os grãos de arroz antes de eles serem consumidos (Rahman e Hasegawa, 2011). O teor de arsênio encontrado no arroz nessa região da Ásia foi  $1,83 \text{ mg kg}^{-1}$  (Rahman e Hasegawa, 2011). Na China estima-se que 60% de todo o arsênio inorgânico ingerido pela população adulta é por meio do arroz (Li *et al.*, 2011). Além disso, segundo Willians *et al.* (2011), os grãos de arroz contém dez vezes mais arsênio que outros cereais.

Existe substancial variação nos teores de cada espécie de arsênio encontrado em grãos de arroz, de acordo com: o tipo de grão, a região geográfica na qual ele é produzido e o tipo de cultivo (Zhao *et al.*, 2013). O arroz produzido na Ásia, por exemplo, contém alta proporção de arsênio inorgânico, enquanto que o arroz produzido na região central e sul dos EUA possui alta proporção de arsênio orgânico (Meharg *et al.*, 2009).

Na Argentina, em um estudo realizado na província de Entre Rios, utilizando HPLC-HG-AFS, com 59 amostras de arroz, Farías *et al.* (2015) mostrou que há uma predominância de DMA, porém não foi encontrado MMA e, a concentração de As inorgânico variou entre 0,02 e  $0,28 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Pouco se sabe ainda sobre os níveis de arsênio contidos na alimentação básica (arroz e feijão) no Brasil. Em 2005, Batista *et al.* iniciou os estudos avaliando 44 amostras de arroz de diferentes tipos (branco, branco parboilizado, marrom, marrom parboilizado, orgânico e orgânico parboilizado) de diferentes regiões do Brasil utilizando HPLC-ICP-MS. As formas predominantes encontradas foram As (III), As (V) e DMA. No arroz marrom de São Paulo e Rio Grande do Sul (maior produtor) estavam presentes os maiores teores de arsênio inorgânico. Diante disso, é importante a continuidade dos estudos para um mapeamento mais detalhado com relação à exposição da população brasileira ao arsênio, especialmente em regiões de mineração na qual o arsênio está naturalmente presente.

Para o estudo da especiação do arsênio é necessário a combinação de técnicas poderosas de separação e determinação. As principais técnicas de separação empregadas para este fim são:

a) *Extração em fase sólida (SPE)*: é uma técnica de extração/pré-concentração de um analito presente em uma matriz complexa. É uma técnica eficiente e de baixo custo. Nos últimos anos tem se mostrado eficiente para extração das espécies de arsênio de matrizes ambientais e biológicas (Chen *et al.*, 2014).

b) *Nanomateriais funcionais*: com o progresso da ciência dos materiais, alguns nanomateriais com nanofibras (Chen *et al.*, 2009), hidróxidos metálicos precipitados (An *et al.*, 2012), tem sido desenvolvidos tornando a extração mais eficiente, melhorando também a seletividade e capacidade de absorção.

c) *Extração líquido-líquido (LLE)*: Para a separação das espécies de arsênio de matrizes ambientais é muito utilizado o dodecano modificado contendo 4% de dodecanol e Aliquat 336 como extratante (Guell *et al.*, 2010). Uma outra alternativa que vem se apresentando promissora como um pré-tratamento da amostra e separação das espécies de arsênio é a utilização de líquido

iônico (ILs) em substituição aos solventes orgânicos já que apresentam a vantagem de possuir baixa toxicidade, serem não inflamáveis e quimicamente estáveis (Chen *et al.*, 2014).

As técnicas de determinação mais comumente utilizadas na detecção de espécies de arsênio em baixas concentrações são espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de emissão atômica (AES), espectrometria de fluorescência atômica (AFS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (Pilau, 2005).

O ICP-MS é a mais utilizada devido à sua grande sensibilidade, além de ser aplicável para todas as espécies de arsênio, no entanto, possui um alto custo (Chen *et al.*, 2014). Nesse contexto, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Hidretos (HPLC-HG-AFS) é uma técnica hifenada poderosa que apresenta um custo experimental e operacional bastante inferior, além de vantagens como especificidade, seletividade e alta sensibilidade. O HPLC-HG-AFS se apresenta, portanto, como uma excelente alternativa para a especiação de arsênio em amostras de alimentos, por ser compatível com os baixos teores normalmente encontrados neste tipo de matriz e com os limites baixos e rigorosos exigidos na legislação (na ordem de ppb) (Narukawa *et al.*, 2014; Sofuoglu *et al.*, 2014; Peng *et al.*, 2014).

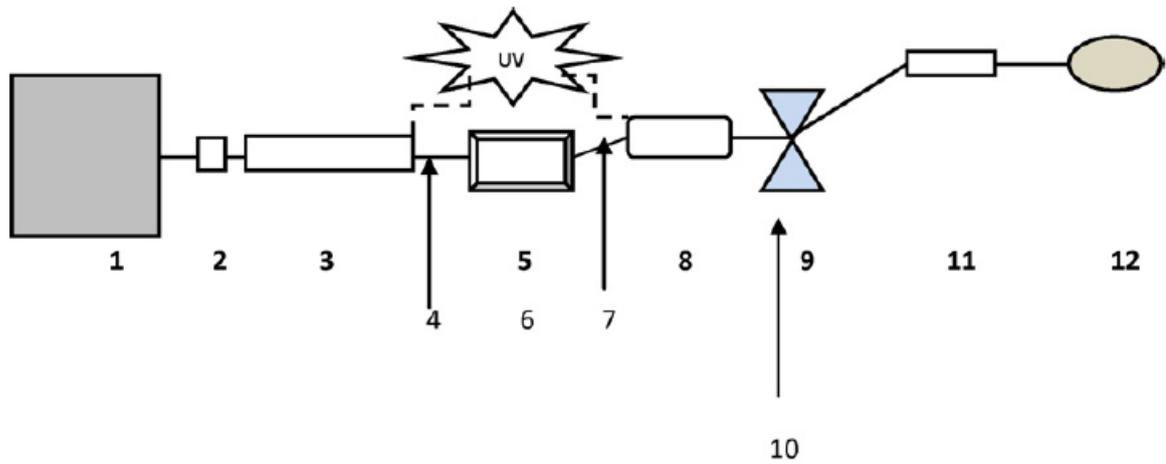
### **2.1.3. Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos (HPLC-HG-AFS)**

O HPLC-HG-AFS é uma técnica muito sensível para a determinação de vapores de hidretos de importância ambiental como As, Hg, Sb, Se, Bi, Cd e Sn. As especificidades de

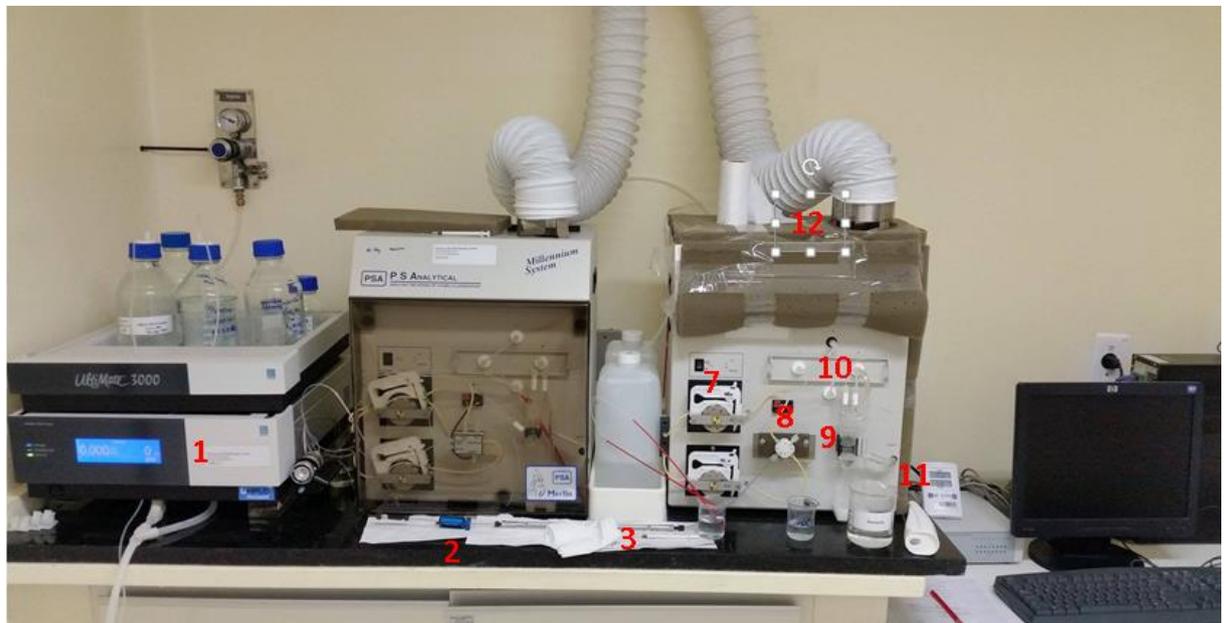
cada estudo estão relacionadas ao tipo de coluna, natureza do eluente, o preparo da amostra e a interface entre o HPLC e o AFS (Chen e Belzile, 2010).

A Figura 7 apresenta um esquema geral de funcionamento de um HPLC-HG-AFS. A bomba do HPLC (1) precisa ter qualidade para garantir a ausência de ruídos no background. A coluna de *guard* (2), tem a função de proteger a coluna de impurezas. A coluna do HPLC (3) é onde ocorre a separação dos analitos de acordo com a interação dos mesmos com a fase móvel e com a fase estacionária (4). A radiação UV (5 - opcional), acelera a oxidação de alguns compostos orgânicos mas, em contrapartida, é lento ou não provoca oxidação de outros (Chen *et al.*, 2005). O sistema de digestão por micro-ondas (6) também pode auxiliar na oxidação de alguns compostos. Em 7 e 8 ocorrem a reação de redução, havendo também variações no agente redutor a ser utilizado de acordo com os compostos a serem analisados. Ocorre então a separação dos compostos voláteis (hidretos) que são “carregados” por um fluxo de argônio (10) até um separador gás líquido (9), no qual são separados do restante da matriz (líquida) que é descartada através do tubo de drenagem (11). Os hidretos formados vão para o atomizador. A chama de argônio-hidrogênio tem resultado em ótimos sinais para o sistema AFS e a atomização não está relacionada com a decomposição térmica mas sim com os radicais livres presentes na chama (Sánchez-Rodas *et al.*, 2010). O vapor atômico absorve a radiação de comprimento de onda específico e a radiação emitida posteriormente é detectada (12).

a)



b)



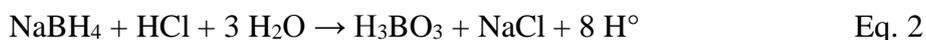
**Figura 7.** Representação geral esquemática de um sistema HPLC-HG-AFS. Chen e Belzile, 2010 (a) e foto do equipamento utilizado nesse trabalho (b). (1) bomba do HPLC e injeção (2) coluna de guard (opcional) (3) coluna do HPLC (4) bomba peristáltica para oxidação (opcional) (5) sistema UV de foto-oxidação (opcional) (6) sistema de digestão por micro-ondas (opcional) (7) bomba peristáltica para o agente redutor (8) câmara de reação (9) separador gás-líquido (10) fluxo de gás (Ar) (11) tubo de drenagem (12) detector.

Os processos químicos específicos dessa técnica estão relacionados com as reações químicas específicas para cada elemento. A cinética dessas reações químicas e a garantia de que elas ocorram de forma completa são os fatores primordiais para o controle da sensibilidade da técnica e o sucesso da análise. Essas reações químicas ocorrem antes da detecção, em duas etapas:

- Oxidação dos compostos orgânicos em compostos inorgânicos.

Para a especiação do As, utiliza-se  $K_2S_2O_8$  ou  $Na_2S_2O_8$  juntamente com radiação UV (Gómez-Ariza *et al.*, 2000; He *et al.*, 2000). No entanto, a literatura mostra que, utilizando-se uma concentração relativamente alta do borohidreto de sódio, DMA, MMA e As (V) podem ser convertidos em espécies voláteis para serem determinados via AFS não sendo necessária a etapa de oxidação (Vilanó *et al.*, 2000 e Narsito *et al.*, 1990).

- Transformação das espécies de interesse para a valência adequada à formação de hidretos ou espécies voláteis.



Onde  $m$  pode ou não ser igual a  $n$  e  $X$  é o elemento de interesse.

Nessa etapa está a principal vantagem dessa técnica para especiação de arsênio: somente os hidretos voláteis são carregados para o detector através de um fluxo de gás de arraste e a matriz da amostra é deixada no resíduo líquido, eliminando assim, interferências no sistema de detecção.

A formação de espécies voláteis que possam atingir o detector, está relacionada com a concentração de  $NaBH_4$ . Segundo Narsito *et al.* (1990) apenas quando a concentração de  $NaBH_4$  se aproxima de 1,0 % (m/v), todo o As(V) forma espécies voláteis e deixa a solução. A solução de  $NaBH_4$  é instável e deve ser preparada para uso imediato. A sua estabilidade pode

ser aumentada pela adição de hidróxido de sódio (NaOH) ou potássio (KOH), necessitando de filtração (0,45  $\mu\text{m}$ ) para remover a turvação produzida pelo precipitado de carbonato (Balujas Santos e Gonzalez-Portal, 1992). O  $\text{NaBH}_4$  não forma um produto volátil com algumas espécies de arsênio: arsenobetaina, arsenocolina, arseno-açúcares e também compostos organo-arsênicos industriais. Essas espécies precisam ser transformadas em arsênio inorgânico para serem determinadas como arsênio total (Barra *et al.*, 2000). Arsenito e arseniato formam  $\text{AsH}_3$ , MMA forma  $\text{CH}_3\text{AsH}_2$  e DMA forma  $(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$  (Le *et al.*, 1994).

Com relação à escolha do ácido, Vilanó *et al.* (2000) mostrou que em uma concentração ótima de borohidreto (1,5% (m/v)) com  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  de HCl obtém-se um maior ganho de sinal para as espécies As (III) e DMA que com uma solução  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Para as demais espécies (MMA e As (V)), nenhuma diferença foi observada.

Apesar de estar crescendo o número de trabalhos publicados utilizando essa técnica, ainda não há um instrumento robusto com parâmetros bem definidos para ser comercializado. Existe muita variação com relação aos valores obtidos de sensibilidade para as espécies na literatura de acordo com os parâmetros e configurações instrumentais de cada pesquisador. Além disso, a pouca informação de especiação em materiais certificados dificulta o desenvolvimento da técnica.

O AFS tem sensibilidade comparável a outras técnicas (Chen e Belzile, 2010). Para a determinação de As inorgânico, Lindberg *et al.* (2007) comparou as técnicas HPLC-HG-ICP-MS, HPLC-HG-AFS e HPLC-HGAAS não encontrando diferença nos parâmetros analíticos obtidos, sendo o HG-AFS o mais recomendado por possuir alta sensibilidade com menor custo, sendo, portanto, mais acessível. Além disso, o HPLC-ICP-MS é considerado um instrumento de alto custo, tanto para aquisição quanto para manutenção (Chen e Belzile, 2010).

## 2.2. Objetivos

### **2.2.1. Objetivo geral**

O presente trabalho tem como objetivo principal desenvolver e validar um método analítico para a especiação de arsênio em amostras de arroz empregando HPLC-HG-AFS.

### **2.2.2. Objetivos específicos**

- realizar a especiação das formas orgânicas e inorgânicas de arsênio que apresentam toxicidade significativa As(V), As(III), ácido monometilarsônico (MMA) e ácido dimetilarsínico (DMA) em amostras de arroz;
- otimizar o método HPLC-HG-AFS e estudar a influência dos seguintes fatores na resolução dos cromatogramas: pH, força iônica do tampão, vazão da fase móvel, concentração de NaBH<sub>4</sub> e concentração de HCl;
- validar o método com as seguintes figuras de mérito: linearidade, coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>), precisão, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e veracidade;
- aplicar o método a diferentes tipos de amostras de arroz e verificar a sua exatidão utilizando a Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (HPLC-ICP-MS).

## **2.3. Experimental**

### **2.3.1. Instrumentação**

Um cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado a um gerador de hidretos com detecção via espectrometria de fluorescência atômica (HPLC-HG-AFS) (PSAnalytical, Excalibur) foi utilizado. A coluna é de troca aniônica da Hamilton PRPX-100. Os parâmetros de operação utilizados após os procedimentos de otimização são os seguintes: pH 6,2 da fase móvel constituída de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; vazão da fase móvel igual a 0,57 mL min<sup>-1</sup>; concentração da fase móvel 20 mmol L<sup>-1</sup>; concentração de HCl 5,55 % v/v com vazão de 2,5 mL min<sup>-1</sup> e concentração de NaBH<sub>4</sub> 0,90% m/v com vazão de 4,5 mL min<sup>-1</sup>.

Um espectrômetro de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) (Perkin Elmer NexION 300XX) com nebulizador Meinhard foi utilizado com os seguintes parâmetros de operação: fluxo do plasma (argônio 99,999%) 15 L min<sup>-1</sup>, fluxo do gás auxiliar 1,20 L min<sup>-1</sup>, fluxo do oxigênio (99,99%) 0,6 mL min<sup>-1</sup>, fluxo do nebulizador 0,9 mL min<sup>-1</sup>, 20 varreduras com tempo de permanência por leitura 75 ms.

### **2.3.2. Reagentes**

Todos os reagentes foram utilizados como recebidos, sem nenhum processo de purificação adicional. Foi utilizada água purificada pelo sistema Milli-Q (Elix Technology, Singapura/Ásia) para o preparo de todos os padrões e soluções reagentes. Ácido nítrico 65% (Química Moderna, SP/Brasil), Ácido clorídrico 37% fumegante (Química Moderna, SP/Brasil), borohidreto de sódio (Sigma-Aldrich), hidróxido de sódio (Sigma-Aldrich), fosfato de potássio dibásico (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) (Sigma-Aldrich), fosfato de potássio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Sigma-Aldrich), arsenito de sódio (AsNaO<sub>2</sub>) 99,0% (Fluka), ácido cacodílico (C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>AsO<sub>2</sub>) 98% (Sigma-Aldrich), metil arsenato de dissódico hexahidratado (CH<sub>3</sub>AsO(ONa)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O) (Santa Cruz Biotechnology), arsenato de sódio dibásico heptahidratado (HAsNa<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) 98,0% (Sigma-Aldrich), arsênio 1000 mg L<sup>-1</sup> com 2% HNO<sub>3</sub> (SPEX CertiPrep), padrão interno de ítrio 1000 mg L<sup>-1</sup> (SPEX CertiPrep). O material de referência certificado analisado foi o NIST SRM 1568b (National Institute of Standards and Technology, NIST, USA) contendo 180 ± 12 ppb de DMA, 11,6 ± 3,5 ppb de MMA e 92 ± 10 ppb de As inorgânico.

### **2.3.3. Amostragem**

As amostras de arroz foram adquiridas em supermercados locais, as marcas não serão citadas pois não é o objetivo do trabalho estabelecer essa relação. Inicialmente, todas as

amostras de arroz foram congeladas rapidamente utilizando nitrogênio líquido e moídas em blender (Cuisinart) até que 90 % passasse em uma peneira de 300  $\mu\text{m}$  (Viatest GmbH). A transformação do arroz em um pó fino é importante para melhorar a eficiência da extração. Após essa etapa foi feito o quarteamento até a obtenção de uma fração próxima de 10 g. As amostras foram guardadas em temperatura ambiente, longe de fontes de luz e calor.

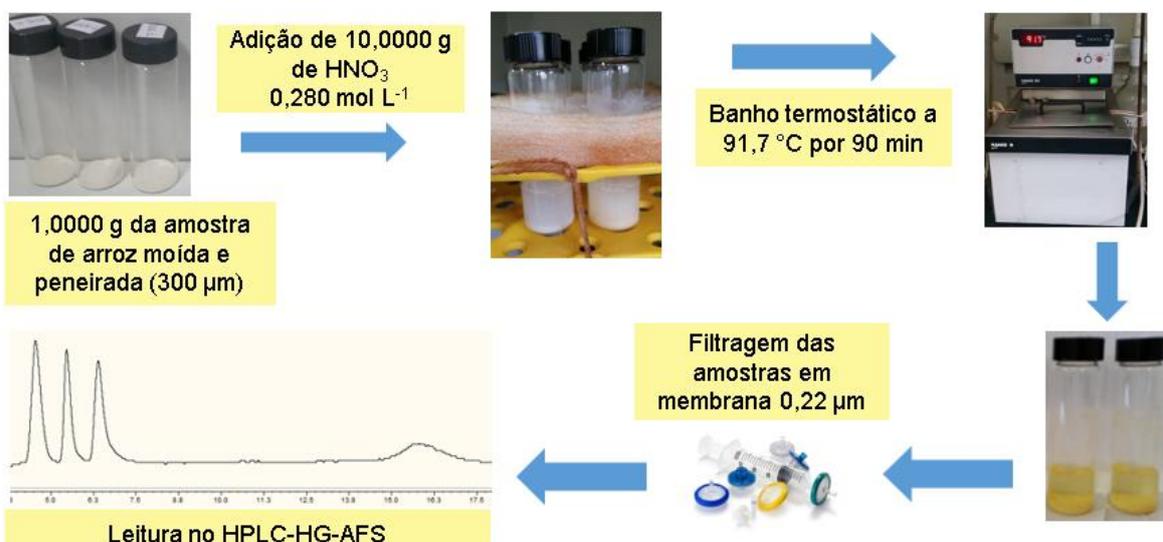
#### **2.3.4. Procedimento de extração para especiação em HPLC-HG-AFS**

Pesou-se 1,0000 g de amostra moída de arroz em tubos de vidro e adicionou-se 10,0000 g de  $\text{HNO}_3$  0,280 mol  $\text{L}^{-1}$ . Os tubos foram colocados em banho termostático com circulação de água (HAAKE, N3) a 91,7 °C, durante 1 hora e 30 minutos. Ao final desse tempo, os tubos foram retirados do banho e nota-se uma alteração da cor que antes era branca (pó de arroz) e, ao final da extração torna-se bem amarelada (Figura 8). Os tubos foram deixados em repouso para resfriamento à temperatura ambiente. Após o resfriamento, os tubos foram centrifugados (Excelsa Baby II, 206 R) e o extrato filtrado, utilizando-se para isso filtros de seringa contendo uma membrana de 0,22 micra, acoplados a uma seringa de 10,0 mL. Na sequência, foi realizada a adição dos padrões de arsênio, na qual foram pesados 4,0000 g do extrato filtrado e 1,0000 g de padrão em ácido nítrico, contendo as 4 espécies de arsênio a serem estudadas e, totalizando 5,0000 g de amostra.

A fortificação das amostras com padrões de arsênio foi feita levando-se em consideração o limite de detecção do método para cada espécie estudada, a sensibilidade e uma estimativa do teor presente inicialmente de cada espécie de arsênio na amostra. Essa estimativa é obtida através da injeção no HPLC-HG-AFS de um extrato puro da amostra a ser estudada (com teor desconhecido de arsênio) e comparando-se, por uma relação diretamente proporcional, a

intensidade do sinal obtido com a intensidade do sinal de um padrão 10,00 ppb de cada espécie de arsênio.

Após a fortificação das amostras com padrões de arsênio, as amostras foram homogeneizadas e colocadas em banho ultrassônico (Biociclo Instrumentos Científicos) por 20 minutos. Ao final, as amostras são injetadas no HPLC-HG-AFS. A Figura 8 ilustra de forma esquemática o procedimento utilizado.



**Figura 8.** Procedimento experimental de extração para especiação de arsênio em HPLC-HG-AFS

### 2.3.5. Extração em microondas para determinação de arsênio total em ICP-MS

Foi pesado 0,2000 g de amostra e esta foi transferida para um frasco no qual foi adicionado 2 mL de ácido nítrico bidestilado. As amostras foram levadas para digestão em micro-ondas (Milestone Ethos One) conforme rampa de aquecimento mostrada na Tabela 3:

**Tabela 3.** Programa de aquecimento para digestão das amostras de arroz em micro-ondas

Tempo (min)	E(W) programada	Temperatura (°C)
10 min	1500	180

15 min	1500	180
30 min	-----	resfriamento até 38°C

Após o resfriamento do microondas (38 °C) as amostras foram retiradas e deixadas em repouso para resfriamento a temperatura ambiente. Após o resfriamento completo, o material digerido foi transferido quantitativamente e o volume final aferido em tubos de polipropileno de 50 mL (tipo Falcon), lavando-se o frasco PTFE (politetrafluoretileno) com água Milli-Q (18.2 MΩ cm<sup>-1</sup>). Posteriormente, as amostras foram armazenadas em geladeira a 4 °C até o momento da leitura antes da qual é feita a adição de 0,1 mL do padrão interno ítrio (50 ppb) com posterior homogeneização. Por fim, as amostras foram analisadas no ICP-MS utilizando amostrador automático.

### **2.3.6. Procedimento para determinação dos principais parâmetros para validação do método**

#### **2.3.6.1 Limite de detecção (LD)**

O limite de detecção (LD) é um parâmetro importante quando o estudo envolve análise de amostras com baixas concentrações do analito pois deve-se saber qual é o menor valor do analito que pode ser detectado pelo método. O objetivo é saber em que nível a detecção do analito pode ser distinguida do sinal do ruído. Para o cálculo do LD foram utilizadas 7 replicatas do branco e a equação 4 na qual DP<sub>branco</sub> corresponde ao desvio padrão do branco.

$$LD = \frac{3,3 \times DP_{\text{branco}}}{\text{inclinação da curva analítica}} \quad \text{Eq. 4}$$

#### **2.3.6.2 Limite de quantificação (LQ)**

O limite de quantificação (LQ) ou limite de determinação pode ser considerado, na prática, como sendo o padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco), ou pode ser calculado utilizando-se a média e o desvio padrão dos brancos. Para o cálculo do LQ foram utilizadas 7 replicatas do branco e a equação 5 na qual  $DP_{\text{branco}}$  corresponde ao desvio padrão do branco.

$$LQ = \frac{10 \times DP_{\text{branco}}}{\text{inclinação da curva analítica}} \quad \text{Eq. 5}$$

#### **2.3.6.3 Efeito de matriz**

Foi feito o estudo do efeito de matriz através do qual buscou-se averiguar possíveis interferências causadas pelas substâncias que compõem a matriz da amostra em estudo por meio de diminuição ou ampliação do sinal da resposta instrumental. Como não dispúnhamos de um extrato de matriz branca (sem o analito), optamos por comparar a quantificação do analito na amostra desconhecida por calibração externa (utilizando o analito em solvente puro) com uma curva de calibração feita utilizando-se os extratos das amostras desconhecidas fortificadas com padrões em ácido nítrico, como recomenda o Guia do INMETRO.

#### **2.3.6.4. Precisão**

A precisão, segundo o Guia do MAPA, é uma estimativa da dispersão de resultados entre ensaios independentes e pode ser expressa de três formas: por meio da repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade. Nesse estudo, a precisão foi avaliada por meio da repetitividade e consistiu no preparo e análise de nove padrões (três níveis de concentração em triplicata) constituídas de solvente ( $\text{HNO}_3$  0,28 mol L<sup>-1</sup>) contendo o analito.

A precisão foi avaliada por meio do cálculo do coeficiente de variação (CV), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR), de acordo com a equação 6 na qual  $s$  corresponde ao desvio-padrão e  $\bar{x}$  à concentração média determinada:

$$CV = DPR = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{Eq. 6}$$

#### 2.3.6.5. Veracidade

A veracidade do método proposto foi avaliada através da especificação de As em um material de referência certificado NIST 1568b Rice Flour. De acordo com o Guia do Inmetro são necessários, no mínimo, cinco níveis de concentração para a construção da curva analítica e o número de replicatas deve ser o mais próximo possível daquele empregado na rotina do laboratório. Dessa forma, as curvas analíticas foram todas construídas com seis níveis de concentração. No entanto, pelo fato de que cada leitura no HPLC-HG-AFS dura cerca de 20 minutos, foi feito em duplicata para cada nível de concentração.

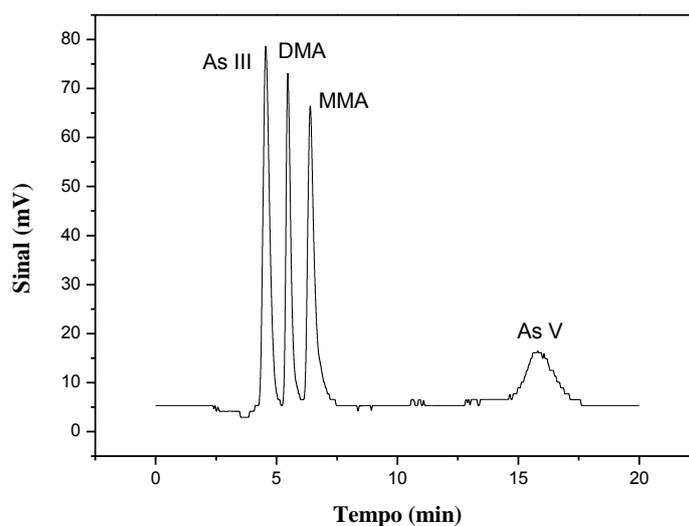
#### 2.4. Resultados e discussão

Esse trabalho foi desenvolvido tendo como ponto de partida os conhecimentos prévios do Grupo INCT-Acqua (Ciminelli *et al.*, 2016) que estuda, há alguns anos, a contribuição da ingestão de alimentos na contaminação humana por arsênio. Quando se faz um estudo de especificação há a preocupação em preservar as espécies orgânicas e inorgânicas presentes e, nesse sentido, baseado nos estudos de Huang *et al.*, (2010), Farías *et al.*, (2015) e Batista *et al.*, (2011), o grupo já havia percebido que uma extração utilizando  $\text{HNO}_3$  0,28 mol L<sup>-1</sup> a  $95 \pm 3$  °C por cerca de 90 minutos preserva todas as espécies de arsênio e permite uma recuperação quantitativa das mesmas. Verificou-se que essa mesma extração durante um período de tempo

maior (120 minutos) provoca a redução do As (V) em As (III) (Farías *et al.*, 2015). Além disso, a concentração de HNO<sub>3</sub> deve estar entre (0,2 e 0,7 mol L<sup>-1</sup>), evitando a redução de As (V) por compostos de enxofre e a oxidação do As (III) devido à interação do HNO<sub>3</sub> e os extratos da matriz (Huang *et al.*, 2010).

O grupo já havia verificado também que temperaturas maiores que 95 ± 3 °C diminuam a eficiência da extração. No entanto, esse procedimento de extração era feito em bloco digestor e percebemos que a extração em banho termostático foi mais eficiente garantindo uma melhor repetibilidade entre as replicatas.

O cromatograma abaixo ilustra a sequência de detecção das espécies de arsênio. A separação das espécies é feita através de uma coluna de troca aniônica já que a maioria das espécies de arsênio apresentam-se em solução como espécies neutras ou íons negativos, dependendo do pH (Sánchez-Rodas *et al.*, 2010). Dessa forma, como consequência da interação entre analito ↔ fase estacionária e analito ↔ fase móvel, pode-se observar no cromatograma da Figura 9 que a espécie de menor carga sai da coluna primeiro (As (III)) e a espécie de maior carga (As (V)) fica retida na coluna por mais tempo.



**Figura 9.** Separação cromatográfica das quatro espécies de arsênio em estudo (10 ppb de cada espécie em solução aquosa contendo  $\text{HNO}_3$   $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ )

Como se observa na Figura 9, as eficiências de formação de hidreto são diferentes. Apesar de todas as espécies terem concentração 10 ppb na amostra em estudo, o sinal relativo a cada uma das espécies tem altura e áreas distintas. Esse é um comportamento já descrito na literatura como se observa nos trabalhos de Gómez-Ariza *et al.*, (2000) e Farías *et al.*, (2015).

#### 2.4.1. Otimização do método

A otimização do método teve como objetivo determinar as condições nas quais há uma sensibilidade adequada e melhor separação das espécies, acarretando em exatidão adequada dos resultados. Estudou-se a influência dos seguintes fatores na resolução dos cromatogramas: pH (5,7; 5,9; 6,2; 6,5 e 6,7); concentração da fase móvel (15; 17,5; 20; 22,5 e 25  $\text{mmol L}^{-1}$ ); vazão da fase móvel (0,44; 0,50; 0,57; 0,64 e 0,70  $\text{mL min}^{-1}$ ); concentração de HCl (4,6; 5,6; 6,5; 7,4 e 8,3% v/v) e concentração de  $\text{NaBH}_4$  (0,70; 0,80 e 0,90 % m/v). A resolução dos cromatogramas obtidos foi avaliada de forma visual e por meio do cálculo da resolução de acordo com a equação 4:

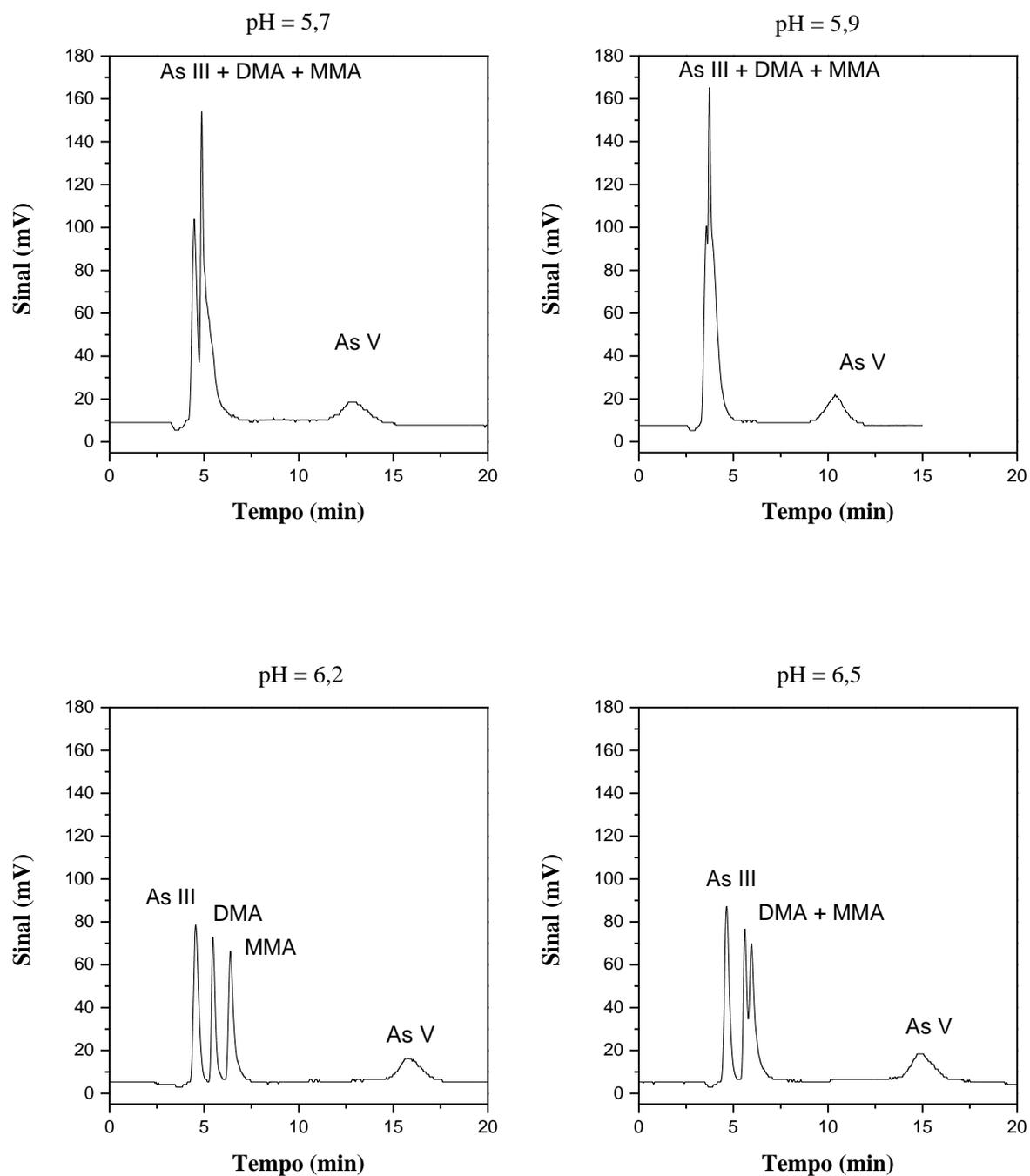
$$R_{1,2} = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{(w_2 + w_1)} \quad \text{Eq. 4}$$

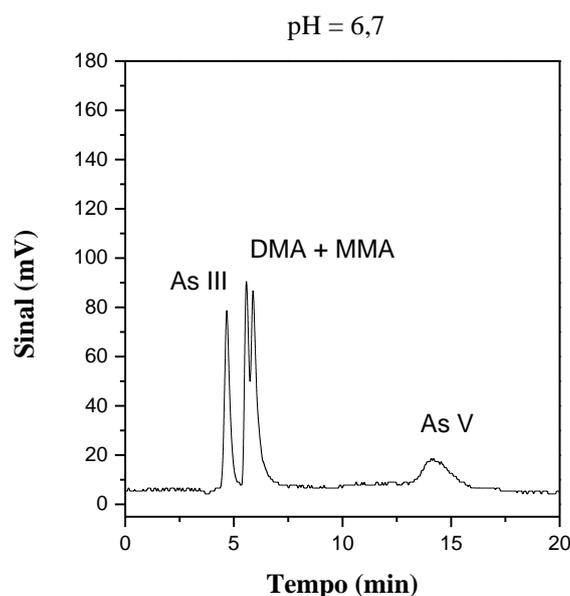
na qual  $t_R$  = tempo de retenção e  $w$  = largura da base.

Os valores fixos dos outros parâmetros experimentais da otimização univariada são: pH 6,2, fase móvel  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$   $20 \text{ mmol L}^{-1}$ , vazão da fase móvel  $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ , concentração de HCl 5,6 % (v/v), concentração de  $\text{NaBH}_4$  0,9 % (m/v) em NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$

### 2.4.1.1. Estudo do pH

Inicialmente foi feito o estudo da influência do pH na resolução do cromatograma como é mostrado na Figura 10. Foram avaliados os seguintes valores de pH: 5,7; 5,9; 6,2; 6,5 e 6,7.





**Figura 10.** Cromatograma obtido do padrão das espécies de arsênio 10 ppb em ácido nítrico para diferentes valores de pH (fase móvel  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$  20  $\text{mmol L}^{-1}$  com vazão 0,57  $\text{mL min}^{-1}$ , HCl 5,6 % (v/v),  $\text{NaBH}_4$  0,9 % (m/v) em NaOH 0,1  $\text{mol L}^{-1}$ )

**Tabela 4.** Cálculo da resolução em função do pH (padrão das espécies de arsênio 10 ppb em nítrico, fase móvel  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$  20  $\text{mmol L}^{-1}$  com vazão 0,57  $\text{mL min}^{-1}$ , HCl 5,6 % (v/v),  $\text{NaBH}_4$  0,9 % (m/v) em NaOH 0,1  $\text{mol L}^{-1}$ )

	pH				
	5,7	5,9	6,2	6,5	6,7
As III / DMA	$1,0 \pm 0,2$	2,49	$2,0 \pm 0,2$	<b><math>2,565 \pm 0,007</math></b>	2,46
DMA / MMA	$8,0 \pm 0,2$	1,62	<b><math>2,6 \pm 0,5</math></b>	$1,08 \pm 0,02$	0,97
MMA / As V		7,17	<b><math>7,7 \pm 0,7</math></b>	$6,96 \pm 0,08$	6,57

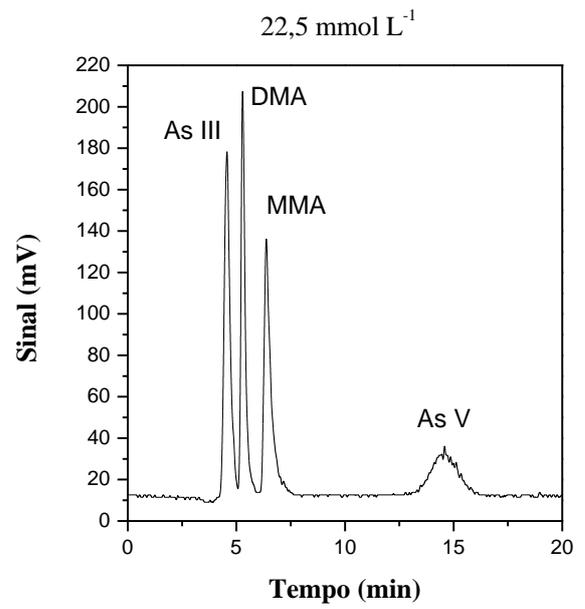
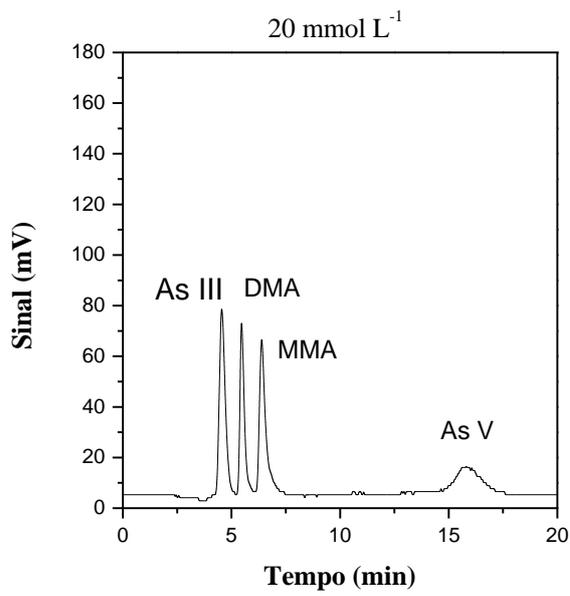
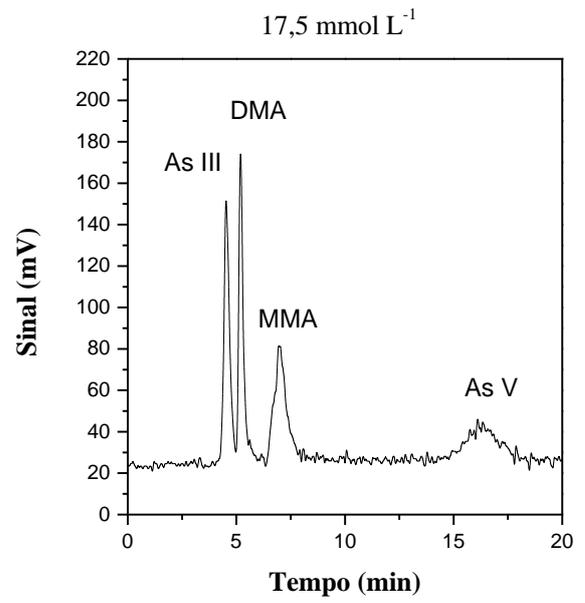
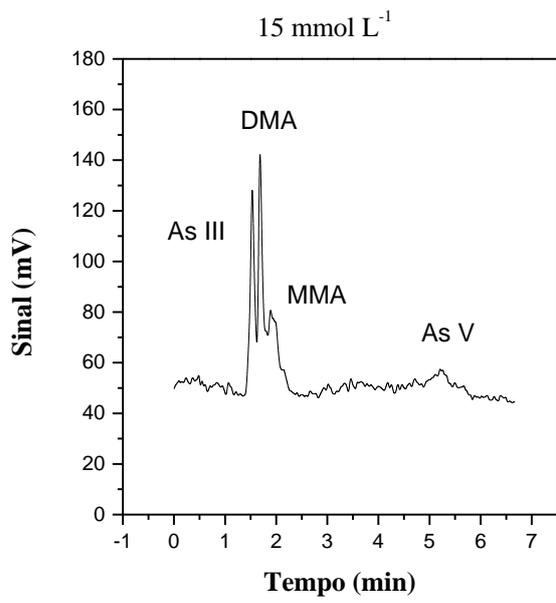
Como pode ser observado na Figura 10 e na Tabela 4, a separação das espécies de arsênio é dependente do pH. Na Tabela 4 foi apresentado os valores obtidos para resolução em função do pH, utilizando a equação 4, e foram destacados os melhores valores obtidos.

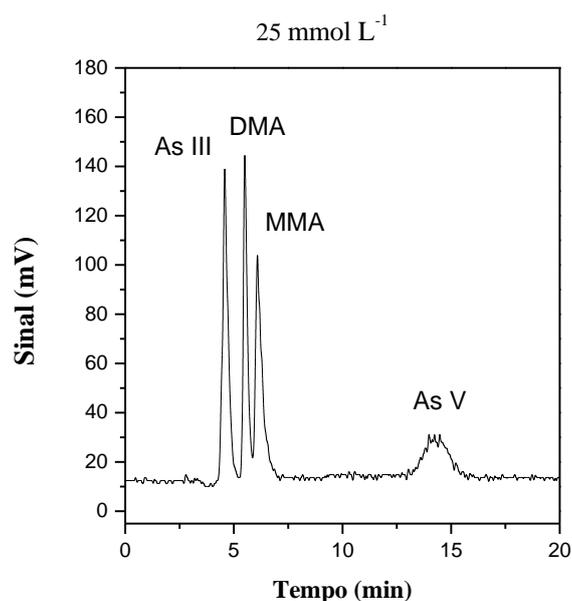
Em pH neutro, As (V) ( $pK_{a1} = 2,3$ ;  $pK_{a2} = 6,8$ ;  $pK_{a3} = 11,6$ ), MMA ( $pK_{a1} = 3,6$ ;  $pK_{a2} = 8,2$ ) e DMA ( $pK_{a1} = 6,2$ ) estão presentes como ânions e o As (III) ( $pK_a = 9,3$ ) como uma espécie não carregada (Le *et al.*, 1993). Segundo Lopez *et al.*, a sensibilidade para As (III) varia pouco numa grande faixa de concentração ácida. Já para As (V) respostas só são obtidas quando a concentração ácida é alta, entre 4,0 e 5,0 mol L<sup>-1</sup> pois o As (V) é reduzido a As (III) antes da conversão em AsH<sub>3</sub> e o potencial de redução para esta reação é dependente da cinética e do pH. Para MMA e DMA, a sensibilidade cai para concentrações ácidas acima de 0,025 mol L<sup>-1</sup> em HCl (Baluja-Santos e Gonzalez-Portal, 1992) ou 0,1 mol L<sup>-1</sup> em HCl (Le *et al.*, 1994).

Como pode ser observado na Tabela 4, em pH 5,9 (resolução 2,49) e 6,5 (resolução 2,565) foi possível separar as espécies As (III) e DMA, no entanto, as espécies DMA e MMA coeluíram. O cromatograma no qual houve uma melhor separação entre DMA - MMA e MMA - As (V) garantindo também a separação entre As (III) e DMA foi obtido em pH 6,2. Portanto, essa foi a condição utilizada para o estudo da concentração da fase móvel.

#### **2.4.1.2. Estudo da concentração da fase móvel**

Utilizando o valor ótimo obtido com o estudo do pH, foi feito o estudo da influência da concentração da fase móvel na resolução do cromatograma como é mostrado na Figura 11. Foram avaliados os seguintes valores de concentração da fase móvel K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 15; 17,5; 20; 22,5 e 25 mmol L<sup>-1</sup>.





**Figura 11.** Cromatograma obtido do padrão das espécies de arsênio 10 ppb em ácido nítrico para diferentes valores de concentração da fase móvel (pH 6,2; vazão da fase móvel 0,57 mL min<sup>-1</sup>, HCl 5,6 % (v/v), NaBH<sub>4</sub> 0,9 % (m/v) em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>)

**Tabela 5.** Cálculo da resolução em função da concentração da fase móvel (padrão das espécies de arsênio 10 ppb em nítrico, pH 6,2, vazão da fase móvel 0,57 mL min<sup>-1</sup>, HCl 5,6 % (v/v), NaBH<sub>4</sub> 0,9 % (m/v) em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>)

	Concentração da fase móvel (mmol L <sup>-1</sup> )				
	15	17,5	20	22,5	25
As III / DMA	1,27 ± 0,04	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1	<b>2,2 ± 0,4</b>
DMA / MMA	1,0 ± 0,1	1,96 ± 0,9	<b>2,6 ± 0,5</b>	2,58 ± 0,08	1,6 ± 0,3
MMA / As V	7 ± 1	5,9 ± 0,6	<b>7,7 ± 0,7</b>	6,36 ± 0,02	6,5 ± 0,2

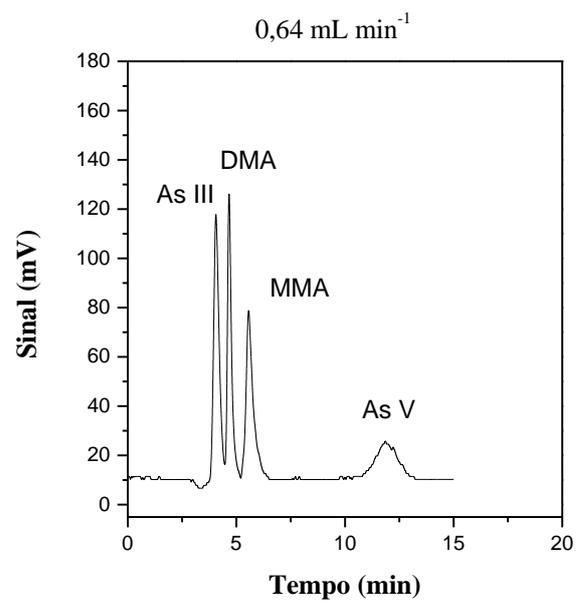
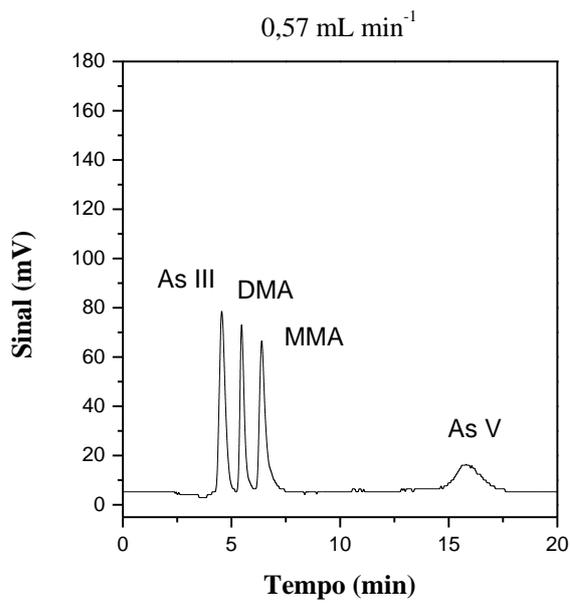
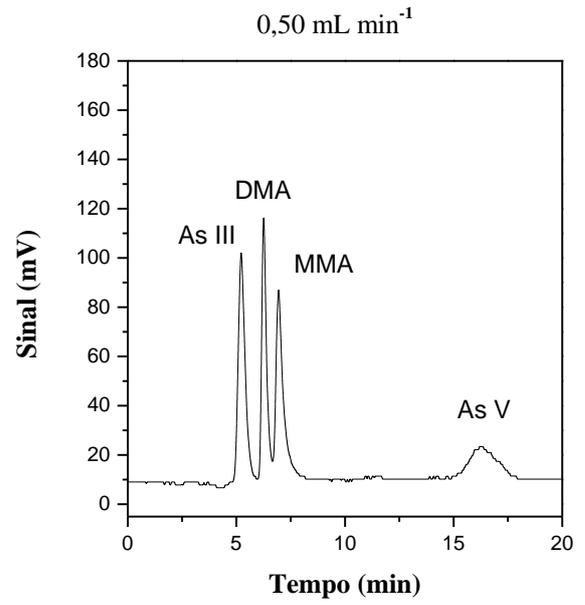
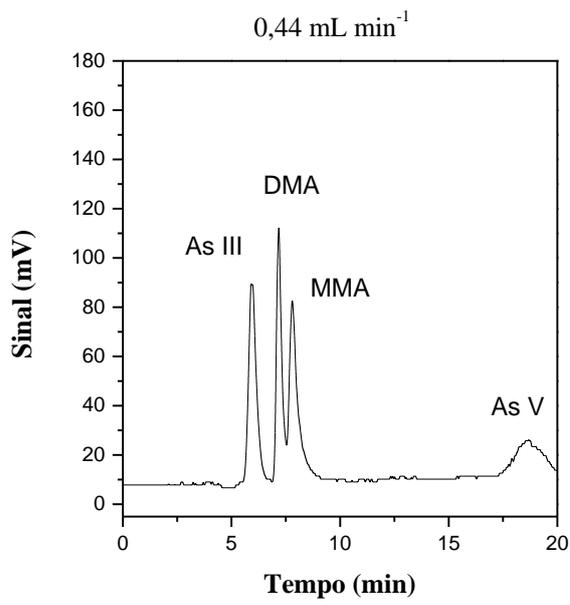
Como pode ser observado na Figura 11 e na Tabela 5, a separação das espécies de arsênio é dependente da concentração da fase móvel. Na Tabela 5 foi apresentado os valores obtidos para resolução em função da concentração da fase móvel em pH 6,2 e foram destacados os melhores valores obtidos. Como se observa nos cromatogramas, quando a concentração é

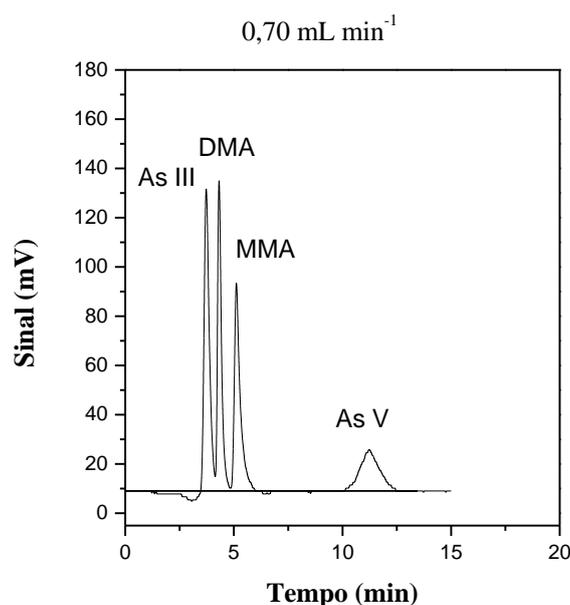
baixa ( $15 \text{ mmol L}^{-1}$ ), há uma coeluição entre as espécies As (III), MMA e DMA. O mesmo efeito ocorre quando a concentração da fase móvel aumenta muito, como se observa entre o DMA - MMA a  $25 \text{ mmol L}^{-1}$ .

Apesar de que a  $22,5 \text{ mmol L}^{-1}$  houve um aumento do sinal para todas as espécies implicando em aumento da sensibilidade, a resolução entre os picos As (III) e DMA foi menor como pode ser observado na Tabela 5. O cromatograma no qual houve uma melhor resolução foi obtido com concentração da fase móvel  $20 \text{ mmol L}^{-1}$ . Portanto, essa foi a condição utilizada para o estudo da vazão da fase móvel.

#### **2.4.1.3. Estudo da vazão da fase móvel**

Utilizando os valores ótimos obtidos com o estudo do pH (6,2) e concentração da fase móvel ( $20 \text{ mmol L}^{-1}$ ), foi feito o estudo da influência da vazão da fase móvel na resolução do cromatograma como é mostrado na Figura 12. Foram avaliados os seguintes valores de vazão da fase móvel:  $0,44 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $0,50 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $0,57 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $0,64 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $0,70 \text{ mL min}^{-1}$ .





**Figura 12.** Cromatograma obtido do padrão das espécies de arsênio 10 ppb em ácido nítrico para diferentes valores de vazão da fase móvel (pH 6,2; concentração da fase móvel 20 mmol L<sup>-1</sup>, HCl 5,6 % (v/v), NaBH<sub>4</sub> 0,9 % (m/v) em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>)

**Tabela 6.** Cálculo da resolução em função da vazão da fase móvel (padrão das espécies de arsênio 10 ppb em nítrico, pH 6,2, fase móvel K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mmol L<sup>-1</sup>, HCl 5,6 % (v/v), NaBH<sub>4</sub> 0,9 % (m/v) em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>)

	Vazão da fase móvel (mL min <sup>-1</sup> )				
	0,44	0,50	0,57	0,64	0,70
As III / DMA	<b>2,34 ± 0,08</b>	2,21 ± 0,07	2,0 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,9 ± 0,4
DMA / MMA	1,4 ± 0,1	1,61 ± 0,06	<b>2,6 ± 0,5</b>	1,9 ± 0,4	1,7 ± 0,7
MMA / As V	6,9 ± 0,1	6,235 ± 0,007	<b>7,7 ± 0,7</b>	5,9 ± 0,9	6,25 ± 0,4

Como pode ser observado na Figura 12 e na Tabela 6, a separação das espécies de arsênio é dependente da vazão da fase móvel. Na Tabela 6 foi apresentado os valores obtidos para resolução em função da vazão da fase móvel, fixando os valores ótimos obtidos para pH

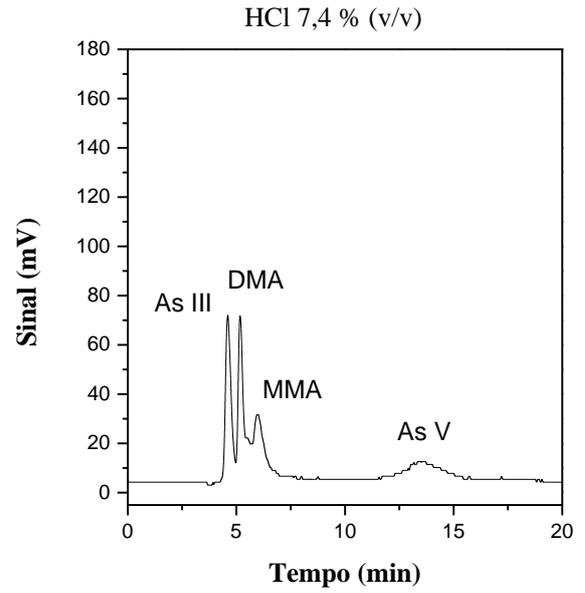
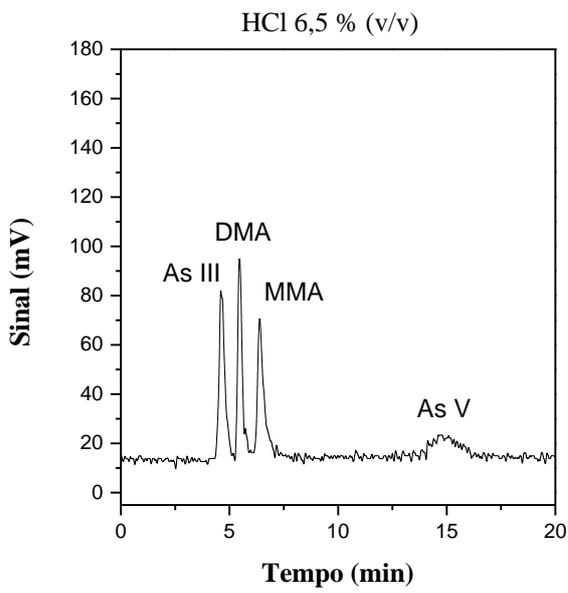
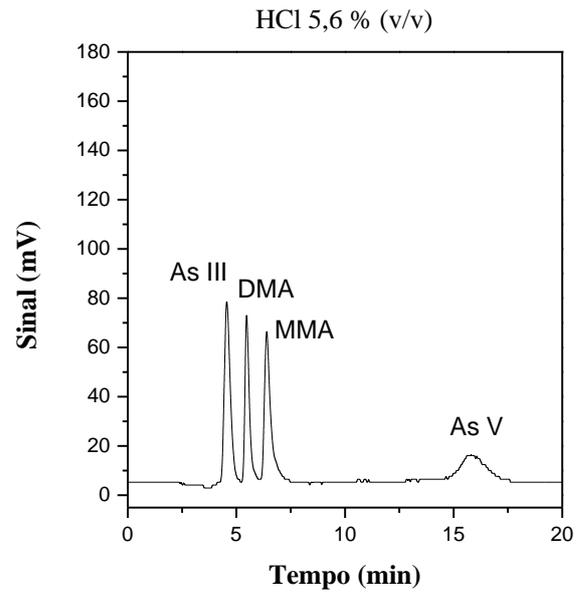
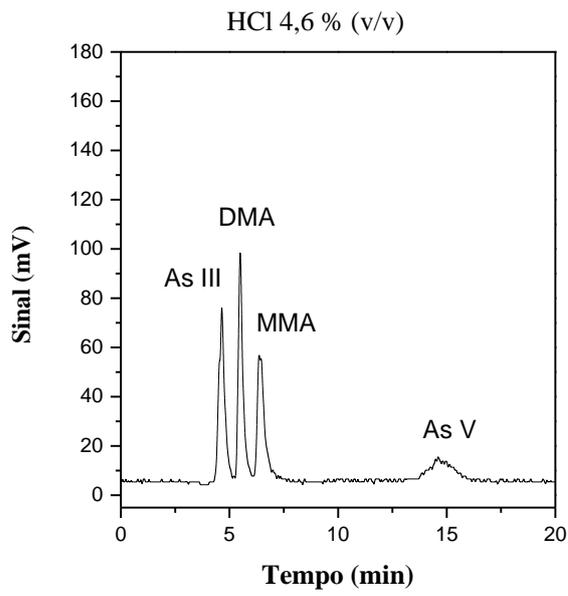
(6,2) e concentração da fase móvel (20 mmol L<sup>-1</sup>) e foram destacados os melhores valores obtidos.

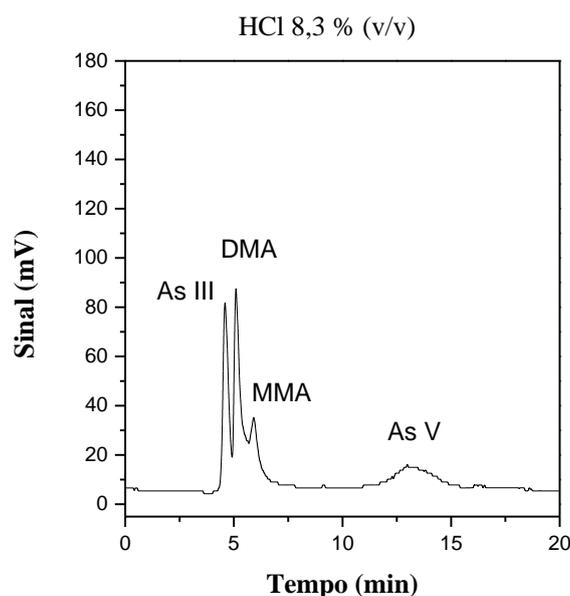
A vazão da fase móvel está relacionada com o tempo de permanência das espécies no interior da coluna o que interfere diretamente na separação das mesmas. Para vazões muito baixas (maior tempo das espécies no interior da coluna) espera-se que haja uma boa separação, porém se esse tempo for muito grande pode ser que o pico fique largo e haja, conseqüentemente, uma diminuição do sinal. Para vazões muito altas as espécies ficarão menos tempo no interior da coluna o que pode não ser suficiente para que haja uma separação adequada dos picos como se observa na vazão 0,70 mL min<sup>-1</sup>. Dessa forma, é importante um compromisso nesse sentido com relação à vazão e separação das espécies objetivando uma boa resolução cromatográfica.

Como pode ser observado na Tabela 6 o cromatograma no qual houve uma melhor separação entre DMA - MMA e MMA - As (V) garantindo também a separação entre As (III) e DMA foi obtido com vazão 0,57 mL min<sup>-1</sup>. Farías *et al.*, (2015) também utilizou essa mesma vazão da fase móvel.

#### **2.4.1.4. Estudo da concentração de HCl**

Utilizando os valores ótimos obtidos com o estudo do pH, concentração e vazão da fase móvel, foi feito o estudo da influência da concentração de HCl na resolução do cromatograma como é mostrado na Figura 13. Foram avaliados os seguintes valores de concentração de HCl: 4,6 (% v/v), 5,6 (% v/v), 6,5 (% v/v), 7,4 (% v/v) e 8,3 (% v/v).





**Figura 13.** Cromatograma obtido do padrão das espécies de arsênio 10 ppb em ácido nítrico para diferentes valores de concentração de HCl, (pH 6,2; concentração da fase móvel 20 mmol L<sup>-1</sup>, vazão da fase móvel 0,57 mL min<sup>-1</sup>, NaBH<sub>4</sub> 0,9 % (m/v) em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>).

**Tabela 7.** Cálculo da resolução em função da concentração de HCl (padrão das espécies de arsênio 10 ppb em nítrico, pH 6,2, fase móvel K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mmol L<sup>-1</sup> com vazão 0,57 mL min<sup>-1</sup>, NaBH<sub>4</sub> 0,9 % (m/v) em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>)

	HCl (% v/v)				
	4,6	5,6	6,5	7,4	8,3
As III / DMA	2,2 ± 0,1	2,0 ± 0,2	1,6 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,12 ± 0,05
DMA / MMA	2,1 ± 0,8	2,6 ± 0,5	2,2 ± 0,2	1,9 ± 0,4	1,94 ± 0,07
MMA / As V	14 ± 3	7,7 ± 0,7	15 ± 13	4,5 ± 0,3	14,0 ± 0,7

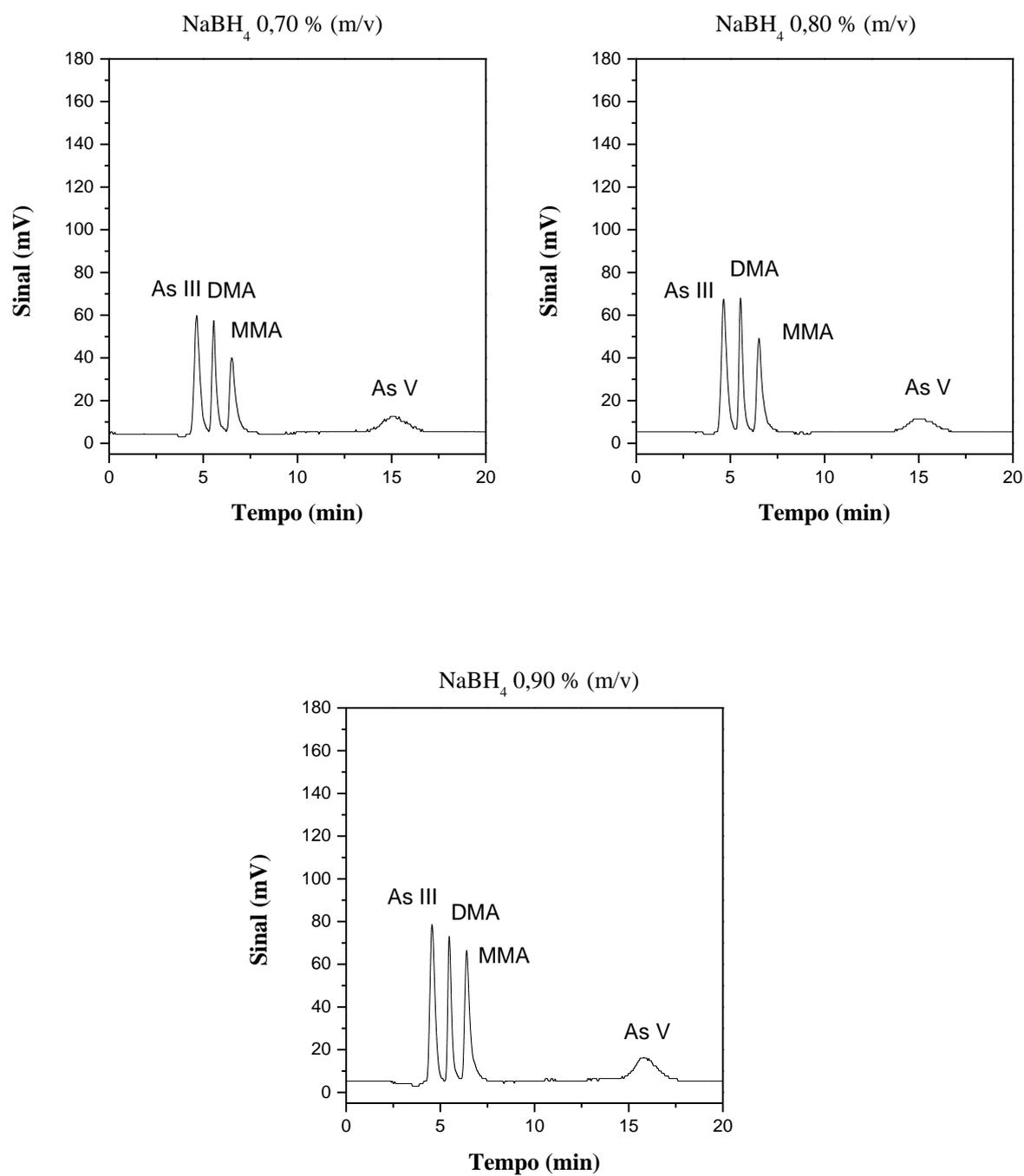
Como pode ser observado na Figura 13 e na Tabela 7, a separação das espécies de arsênio e a formação dos hidretos é dependente concentração de HCl. Na Tabela 7 foi apresentado os valores obtidos para resolução em função da concentração de HCl, fixando os

valores ótimos obtidos para pH (6,2), concentração da fase móvel (20 mmol L<sup>-1</sup>) e vazão da fase móvel 0,57 mL min<sup>-1</sup> e foram destacados os melhores valores obtidos.

Por ser um dos reagentes envolvidos na reação de formação dos hidretos voláteis que irão para o detector, como é mostrado nas equações 2 e 3 deste trabalho, é importante que a concentração utilizada de HCl seja suficiente para ocorrência completa da reação química. No meio menos ácido, 4,6 % v/v, observa-se uma perda de sinal para as espécies As (III), MMA e As(V). Na concentração 5,6 % v/v, esses sinais são intensificados. Além disso, como pode ser observado nos cromatogramas a concentração de HCl também interfere na resolução dos cromatogramas. Em concentrações mais elevadas (7,4 e 8,3 % v/v) os picos As (III), DMA e MMA coeluíram e na concentração 5,6 % v/v obteve-se uma melhor resolução entre DMA - MMA e uma segunda melhor resolução entre As (III) - DMA. Portanto, essa foi a concentração de HCl utilizada no estudo da influência da concentração de NaBH<sub>4</sub>.

#### **2.4.1.5. Estudo da concentração de NaBH<sub>4</sub>**

Utilizando os valores ótimos obtidos com o estudo do pH, concentração e vazão da fase móvel e concentração de HCl, foi feito o estudo da influência da concentração de NaBH<sub>4</sub> na resolução do cromatograma como é mostrado na Figura 14. Foram avaliados os seguintes valores de concentração de NaBH<sub>4</sub>: 0,70 (% m/v), 0,80 (% m/v) e 0,90 (% m/v).



**Figura 14.** Cromatograma obtido do padrão das espécies de arsênio 10 ppb em ácido nítrico para diferentes valores de concentração de NaBH<sub>4</sub> em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,2; concentração da fase móvel 20 mmol L<sup>-1</sup>, vazão da fase móvel 0,57 mL min<sup>-1</sup>, HCl 5,6 (% v/v))

**Tabela 8.** Cálculo da resolução em função da concentração de NaBH<sub>4</sub> (padrão das espécies de arsênio 10 ppb em nítrico, pH 6,2, fase móvel K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mmol L<sup>-1</sup> com vazão 0,57 mL min<sup>-1</sup>, HCl 5,6% (v/v))

	NaBH <sub>4</sub> (% m/v)		
	0,70	0,80	0,90
As III / DMA	2,06 ± 0,02	2,02 ± 0,04	2,0 ± 0,2
DMA / MMA	2,18 ± 0,06	2,46 ± 0,09	<b>2,6 ± 0,5</b>
MMA / As V	10 ± 3	5,5 ± 0,6	<b>7,7 ± 0,7</b>

Como pode ser observado na Figura 14 e na Tabela 8, a separação das espécies de arsênio e a formação dos hidretos é dependente concentração de NaBH<sub>4</sub>. Na Tabela 8 foi apresentado os valores obtidos para resolução em função da concentração de NaBH<sub>4</sub>, fixando os valores ótimos obtidos para pH (6,2), concentração da fase móvel (20 mmol L<sup>-1</sup>), vazão da fase móvel 0,57 mL min<sup>-1</sup> e concentração de HCl (5,6% (v/v)) e foram destacados os melhores valores obtidos.

Assim como o HCl, a concentração de NaBH<sub>4</sub> está diretamente relacionada com a formação das espécies voláteis que irão para o detector. É importante que a concentração utilizada seja suficiente para ocorrência completa da reação química de formação dos hidretos. De acordo com Narsito *et al*, apenas quando a concentração de NaBH<sub>4</sub> se aproxima de 1,0 % (m/v), todo o As (V) forma espécies voláteis e deixa a solução. Além da resolução cromatográfica ter sido melhor para a concentração 0,90% (m/v), observa-se também um ganho de sinal para as espécies As (III), MMA e As (V) com o aumento da concentração de borohidreto de sódio indicando que nessa condição a reação está sendo completa. Farías *et al*. também utilizou NaBH<sub>4</sub> 0,9% (m/v) em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

As condições experimentais otimizadas, pH da fase móve 6,2, concentração da fase móvel K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mmol L<sup>-1</sup>, vazão da fase móvel 0,57 mL min<sup>-1</sup>, concentração de

HCl 5,6 % (v/v) e concentração de NaBH<sub>4</sub> 0,9 % (m/v) em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> foram utilizadas nos experimentos para determinação do teor de cada espécie de arsênio nas amostras desconhecidas.

#### 2.4.2. Validação do método

Posteriormente, com o objetivo de confirmar que o método proposto é adequado para especificação de arsênio em amostras de arroz, foi feita a validação e os principais parâmetros avaliados estão apresentadas na Tabela 9.

**Tabela 9.** Principais figuras de mérito do método proposto

<b>Figuras de mérito</b>	<b>As(III)</b>	<b>DMA</b>	<b>MMA</b>	<b>As(V)</b>
Faixa linear (ppb)	1,59 – 20,0	1,12 – 50,0	0,26 – 20,0	4,81 – 30,0
R <sup>2</sup>	0,9998	0,9995	0,9997	0,9985
Precisão % (n = 3)	2,15 (14 ppb)	1,57 (14 ppb)	2,56 (16 ppb)	6,88 (23 ppb)
LD (ppb)	0,48	0,33	0,08	1,44
LQ (ppb)	1,59	1,12	0,26	4,81

R<sup>2</sup>: coeficiente de correlação linear, LD: limite de detecção, LQ: limite de quantificação.

Esse estudo de validação seguiu como referência o Guias de Validação e Controle da Qualidade Analítica do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro - 2016) e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA - 2011).

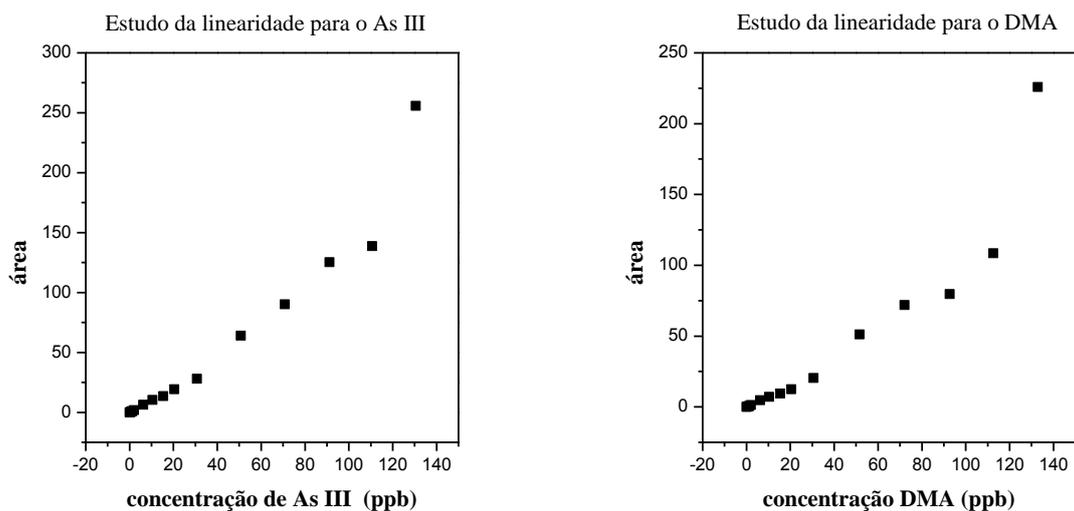
##### 2.4.2.1. Linearidade

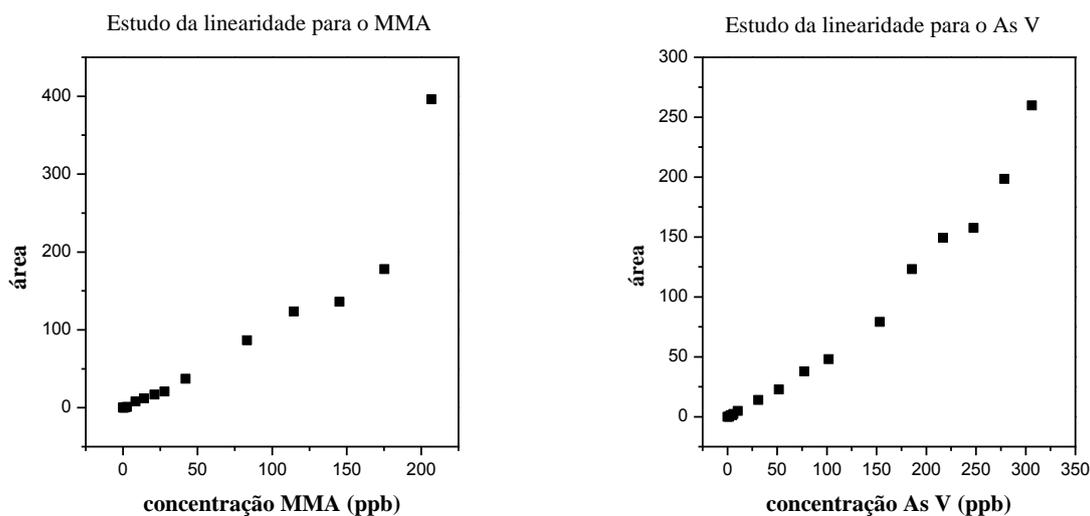
Primeiramente, buscou-se verificar a relação entre a concentração do analito em estudo e a área do pico do cromatograma observando se há linearidade no método. Para isso, foi feita a leitura de 15 padrões contendo diferentes concentrações das espécies de interesse (Tabela 10).

**Tabela 10.** Investigação da linearidade do método

Padrões	Conc (As III) ppb	Área As (III)	Conc (DMA) ppb	Área DMA	Conc (MMA) ppb	Área MMA	Conc (AsV) ppb	Área As (V)
P0	0	0	0	0	0	0	0	0
P1	0,3	0,1	0,3	0,0	0,4	0,0	1,6	0,0
P2	0,6	0,3	0,6	0,1	0,8	0,2	3,1	1,1
P3	0,9	0,7	0,9	0,4	1,2	0,3	4,6	1,2
P4	1,2	0,9	1,2	0,6	1,7	0,6	6,1	2,2
P5	2,1	1,9	2,0	1,2	2,8	1,1	10,3	4,7
P6	6,2	6,3	6,2	4,7	8,4	7,8	31,1	14,0
P7	10,4	10,3	10,4	7,1	14,1	12,0	51,7	22,6
P8	15,4	13,5	15,4	9,4	21,1	16,7	77,3	37,9
P9	20,5	19,3	20,4	12,5	27,9	20,7	101,9	47,9
P10	30,7	28,0	30,6	20,4	42,0	36,9	153,4	79,1
P11	50,7	64,0	51,6	51,1	83,2	86,5	185,7	123,2
P12	70,8	90,1	72,1	71,9	114,5	123,6	217,0	149,4
P13	91,1	125,2	92,7	79,7	145,2	136,0	247,6	157,5
P14	110,6	138,7	112,6	108,5	175,4	178,0	278,7	198,4
P15	130,5	255,7	132,8	225,8	206,9	395,8	306,3	259,8

Ao final foi construído um gráfico no qual as concentrações das espécies foram plotadas no eixo X e a área dos picos dos cromatogramas obtidos no eixo Y, e os resultados deste estudo são apresentados na Figura 15.





**Figura 15.** Estudo da linearidade para cada espécie de arsênio

Dentro da faixa de trabalho determinou-se a faixa de resposta linear ou faixa linear para cada espécie de arsênio: As (III) 1,59 – 20 ppb, DMA 1,12 – 50 ppb, MMA 0,26 – 20 ppb e As (V) 4,81 – 30 ppb. O fator limitante inferior da faixa linear é o limite de quantificação (LQ), como pode ser observado na Tabela 9. O fator limitante superior da faixa de trabalho está relacionado ao sistema de resposta do equipamento de medição (Guia Inmetro - 2016). Após verificar que há uma região na qual o método responde de forma linear, determinou-se a faixa de trabalho que deve compreender a faixa de aplicação para a qual o ensaio é proposto. A concentração mais esperada da amostra deve, sempre que possível, se situar no centro da faixa de trabalho (Guia Inmetro - 2016).

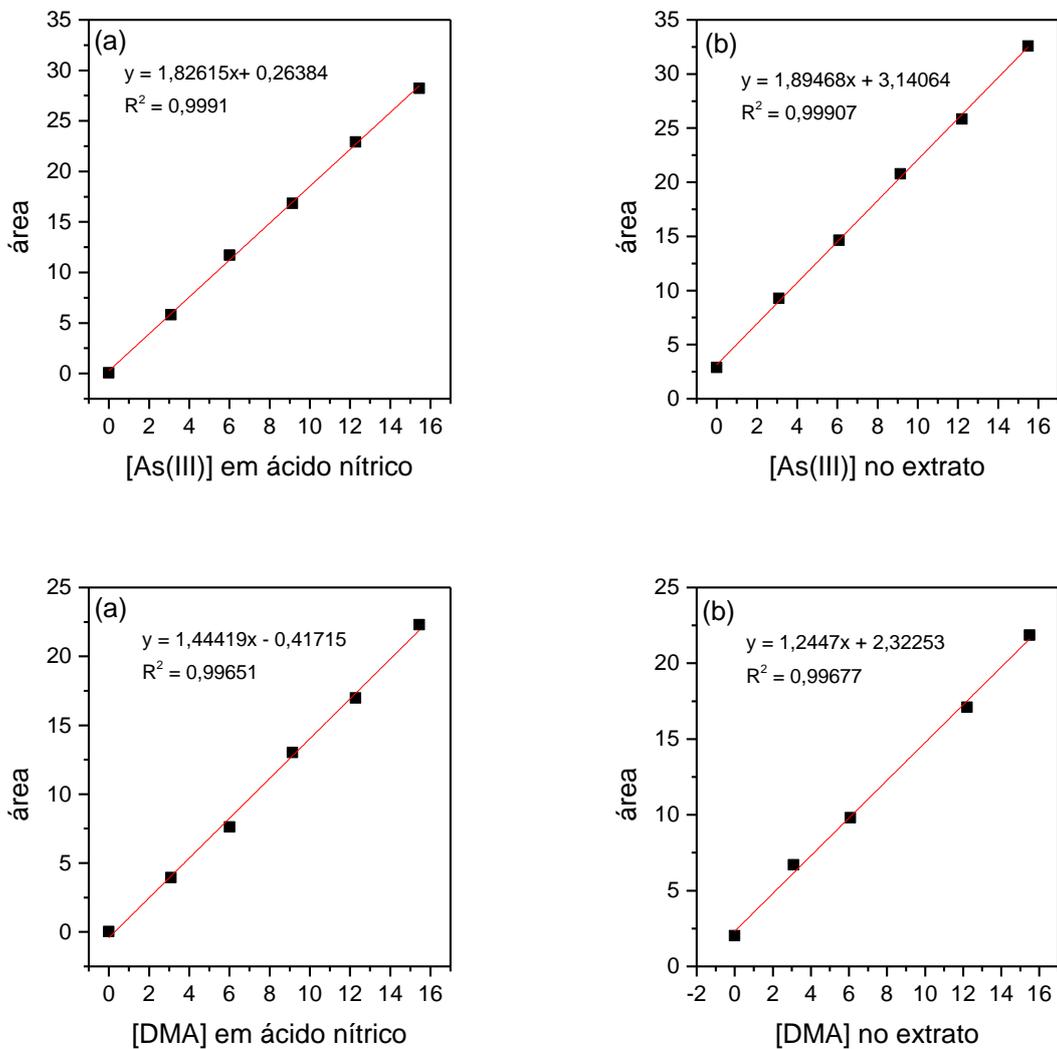
#### **2.4.2.2. Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)**

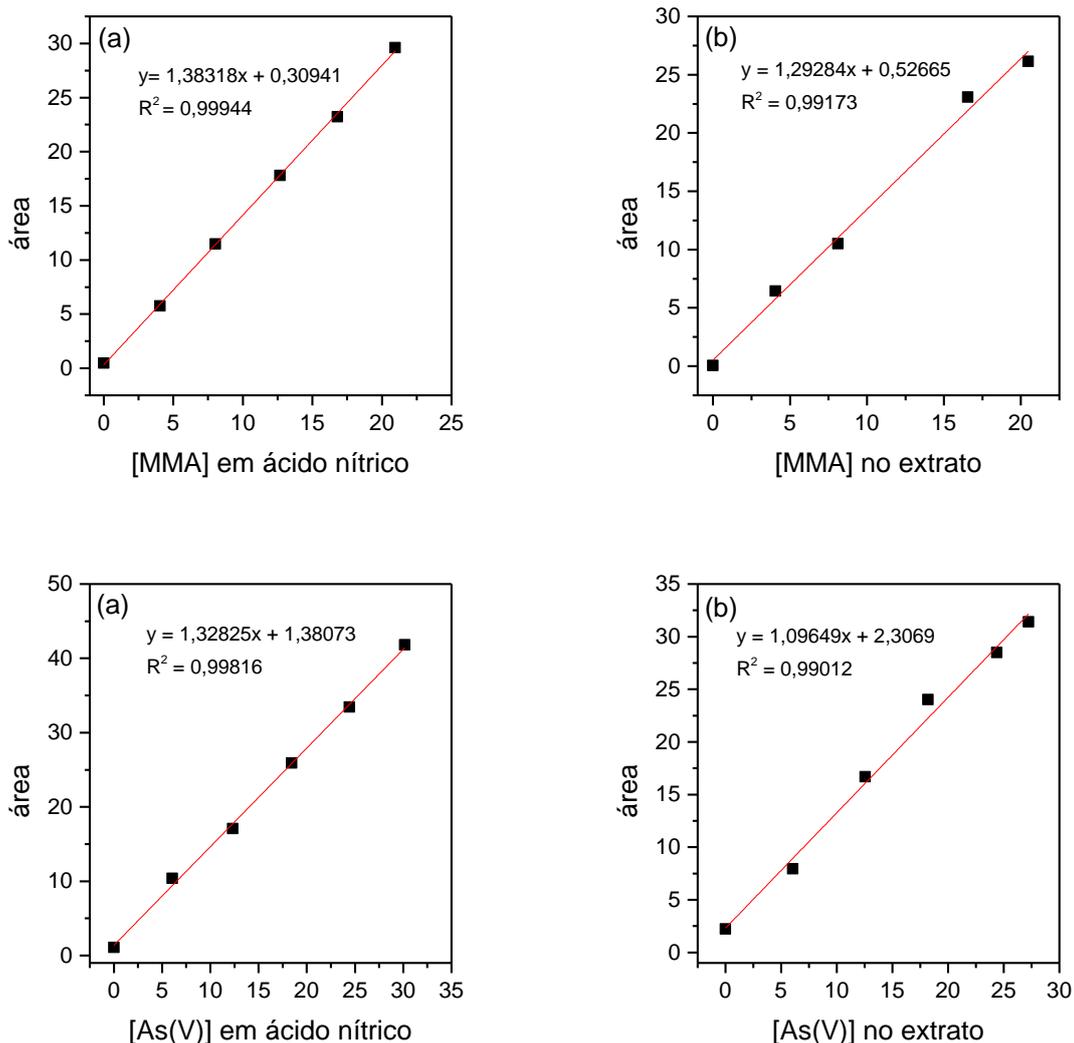
Os limites de detecção e quantificação foram obtidos conforme descrito nos tópicos 2.3.6.1 e 2.3.6.2. Os valores de LD obtidos para cada espécie foram: As (III) (0,48 ppb), DMA

(0,33 ppb), MMA (0,08 ppb) e As (V) (1,44 ppb) e os valores de LQ obtidos para cada espécie foram: As III (1,59 ppb), DMA (1,12 ppb), MMA (0,26 ppb) e As V (4,81 ppb).

### 2.4.2.3. Efeito de matriz

O estudo do efeito de matriz foi feito conforme descrito no tópico 2.3.6.3. Na Figura 16 são apresentadas as curvas analíticas de calibração externa para cada espécie de arsênio em ácido nítrico e as curva de calibração feitas utilizando-se os extratos das amostras desconhecidas fortificadas com padrões em ácido nítrico.





**Figura 16.** Curvas analíticas de calibração externa para cada espécie de arsênio em ácido nítrico (a) e curvas de calibração feitas utilizando-se os extratos das amostras desconhecidas fortificadas com padrões em ácido nítrico (b).

Através do teste F, foi verificado se os dois desvios-padrão obtidos usando métodos diferentes de curva de calibração são significativamente diferentes entre si. Observa-se na Tabela 11 que  $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$  (95%) para as curvas obtidas para determinação das espécies As (III), As (V) e DMA, não havendo portanto diferença significativa entre os desvios-

padrão. No entanto, para o MMA,  $F$  calculado  $>$   $F$  tabelado (95%), e, portanto, os desvios-padrão são significativamente diferentes um do outro.

**Tabela 11.** Comparação dos desvios-padrão com o teste  $F$ .

<b>Espécie</b>	<b>Desvio padrão (curva em ácido nítrico)</b>	<b>Desvio padrão (curva no extrato)</b>	<b>F calculado</b>
<b>As (III)</b>	0,0245	0,0259	1,1107
<b>As (V)</b>	0,0255	0,0489	3,6921
<b>DMA</b>	0,0428	0,0354	1,4634
<b>MMA</b>	0,0171	0,0590	11,9192

Para as espécies As (III) e As (V),  $F$  crítico (95%) = 5,0503, para a espécie DMA,  $F$  crítico (95%) = 6,2561 e para a espécie MMA,  $F$  crítico (95%) = 5,1922.

Posteriormente, calculou-se o teste  $t$  de student (Tabela 12) para avaliar se os coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas por métodos diferentes são significativamente iguais ou diferentes.

**Tabela 12.** Comparação dos coeficientes angulares com o teste  $t$ .

<b>Espécie</b>	<b>Inclinação (curva em ácido nítrico)</b>	<b>Inclinação (curva no extrato)</b>	<b>t calculado</b>
<b>As (III)</b>	1,8262	1,8947	-2,0530
<b>As (V)</b>	1,3283	1,0965	6,0231
<b>DMA</b>	1,4442	1,2447	3,3393
<b>MMA</b>	1,3832	1,2928	3,3118

Para as espécies As (III) e As (V),  $t$  tabelado (95%) = 2,228 e para as espécies DMA,  $t$  tabelado (95%) = 2,262 e MMA,  $t$  tabelado (95%) = 2,776.

Como o  $t$  calculado foi maior que o  $t$  tabelado (95%) para as curvas espécies das espécies As (V), DMA e MMA, conclui-se que os coeficientes angulares obtidos são diferentes e,

portanto, foi verificada a existência do efeito de matriz e a necessidade de utilizar o método da adição de padrão para análise das amostras de arroz.

#### 2.4.2.4. Precisão

O estudo da precisão foi feito conforme descrito no tópico 2.3.6.4. A Tabela 13 mostra os resultados obtidos para a precisão

**Tabela 13.** Estudo da precisão

Padrões sintéticos	Concentração das espécies de arsênio $\mu\text{g L}^{-1}$			
	As (III)	DMA	MMA	As (V)
padrão 1	3,67	3,67	4,33	6,54
padrão 1	3,58	3,65	4,16	5,52
padrão 1	4,01	4,29	4,64	5,14
$\bar{x}$ padrão 1	3,75	3,87	4,38	5,73
s padrão 1	0,23	0,36	0,24	0,72
CV padrão 1	6,07	9,44	5,56	12,65
padrão 2	8,23	7,36	8,97	17,39
padrão 2	8,69	8,29	10,16	15,20
padrão 2	8,80	8,73	11,53	17,35
$\bar{x}$ padrão 2	8,57	8,13	10,22	16,64
s padrão 2	0,30	0,70	1,28	1,26
CV padrão 2	3,49	8,63	12,52	7,54
padrão 3	13,42	13,78	16,44	22,25
padrão 3	13,90	13,39	15,66	22,36
padrão 3	13,37	13,43	15,83	25,44
$\bar{x}$ padrão 3	13,56	13,53	15,97	23,35
s padrão 3	0,29	0,21	0,41	1,81
CV padrão 3	2,15	1,57	2,56	7,76

$\bar{x}$ : média, s: desvio padrão, CV: coeficiente de variação.

#### 2.4.2.5. Veracidade

O estudo da veracidade foi feito conforme descrito no tópico 2.3.6.5. Os resultados obtidos experimentalmente da especiação do material de referência certificado, utilizando o método proposto, foram comparados com os valores contidos no rótulo do NIST 1568b (arsênio inorgânico total (As III + As V =  $92 \pm 10$  ppb), DMA ( $180 \pm 12$  ppb) e MMA ( $11,6 \pm 3,5$  ppb)). Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 14 abaixo:

**Tabela 14.** Avaliação da exatidão do método proposto

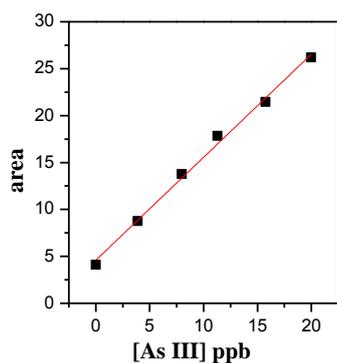
<b>Material certificado</b>	<b>As III</b>	<b>As V</b>	<b>DMA</b>	<b>MMA</b>	<b>As total AFS</b>
Rótulo NIST 1568b	92 ± 10		180 ± 12	11,6 ± 3,5	285 ± 14
Experimento NIST 1568b	57,4	40,7	173,8	11,6	283,5
Erro Relativo	6,63%		3,44%	0	0,53%

Para avaliar a exatidão foi calculado o erro relativo (ER), expresso em porcentagem por meio da expressão abaixo na qual  $X_{lab}$  é o valor obtido experimentalmente e  $X_v$  é o valor certificado, aceito como verdadeiro.

$$ER = \frac{X_{lab} - X_v}{X_v} \times 100 \quad \text{Eq. 7}$$

Como pode ser observado na Tabela 14, o erro relativo para o resultado do As inorgânico total foi de 6,63%, DMA 3,44%, MMA 0% e As total 0,53%, ou seja, muito baixo, mostrando a exatidão do método proposto.

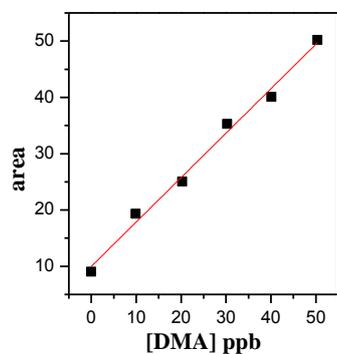
Segue abaixo a Figura 16 que apresenta as curvas analíticas referentes à especificação do NIST 1568b (Tabela 14). Devido à fortificação dos extratos de arroz antes da análise via HPLC-HG-AFS, o valor da concentração de cada espécie de arsênio é obtido por meio da equação da regressão da curva analítica. Posteriormente, para determinar a concentração das espécies de arsênio no grão de arroz, as diluições realizadas durante a etapa de preparo de amostra foram consideradas. A primeira diluição foi de 11 vezes (pesagem de 1,0000 g do material de referência sólido e adição de 10,0000 g de ácido nítrico). A segunda diluição foi de 1,25 vezes (pesagem de 4,0000 g do extrato filtrado e cuja massa foi completado para 5,0000 g com  $\text{HNO}_3$  0,28 mol L<sup>-1</sup>). Os valores da regressão linear (b/a) aplicada no cálculo das respectivas diluições e o teor de arsênio NIST 1568b são apresentados nos quadros ao lado das curvas analíticas (Figura 17).



$$y = 1,09788x + 4,5839$$

$$R^2 = 0,99454$$

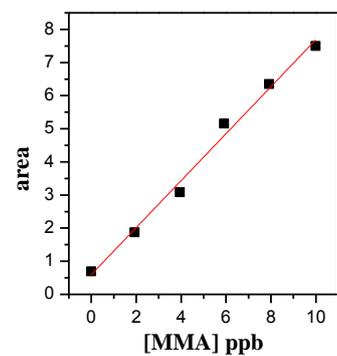
Parâmetro	Valor
b/a	4,1752
1ª diluição	10,9977
2ª diluição	1,2500
[As III] 1568b	57,4 ppb



$$y = 0,78928x + 9,9759$$

$$R^2 = 0,99$$

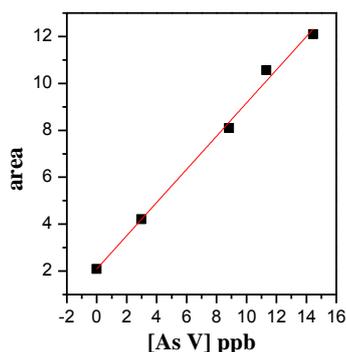
Parâmetro	Valor
b/a	12,6392
1ª diluição	10,9977
2ª diluição	1,2503
[DMA] 1568b	173,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$



$$y = 0,709x + 0,598$$

$$R^2 = 0,98934$$

Parâmetro	Valor
b/a	0,8435
1ª diluição	10,9977
2ª diluição	1,2505
[MMA] 1568b	11,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$



$$y = 0,7073x + 2,0925$$

$$R^2 = 0,99409$$

Parâmetro	Valor
b/a	2,9582
1ª diluição	10,9977
2ª diluição	1,2510
[As V] 1568b	40,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$

**Figura 17.** Determinação do teor de As no NIST 1568b Rice Flour

#### 2.4.2.6. Aplicação do método à amostras reais

Além disso, o método proposto foi aplicado para a determinação e/ou especificação de As em 9 amostras de arroz adquiridas em supermercados locais e os resultados comparados com a análise via ICP-MS. Uma forma de avaliar a tendência do método é através do cálculo da recuperação de acordo com a equação 8:

$$Tendência = \frac{\text{valor observado}}{\text{valor de referência}} \times 100 \quad \text{Eq. 8}$$

O cálculo da recuperação foi realizado comparando-se o valor de As total obtido via HPLC-HG-AFS e via ICP-MS, considerando-se o valor obtido no ICP-MS como o valor de referência (valor esperado). De acordo com o Guia do MAPA, a faixa de aceitação para o cálculo da recuperação varia de acordo com o teor do analito presente na amostra. Para as amostras desse estudo, com concentrações entre 100 e 1000 ppb, é aceitável um valor de 80 a 110 %. Dessa forma, como pode ser observado na tabela 15, todos os valores de recuperação obtidos estão dentro da faixa aceitável com recuperações bem próximas de 100%, confirmando

a aplicabilidade do método proposto empregando HPLC-HG-AFS para especificação de arsênio em amostras de arroz.

Fazendo uma análise dos resultados obtidos na Tabela 15 de acordo com o *Codex Alimentarius* (FAO-WHO), as amostras A, B, C, D e H estão inadequadas ao consumo pois, segundo esse órgão o limite máximo permitido de arsênio em arroz é 200 ppb.

Observa-se que há uma heterogeneidade nas características das amostras estudadas. A amostra H, por exemplo, apresenta um alto teor de arsênio total (798,5 ppb). No entanto, a maior parte deste (700 ppb) corresponde a DMA, que é uma espécie orgânica menos tóxica.

Por outro lado, a amostra E que possui menor teor de arsênio total (103,4 ppb) é a que possui maior teor de As III (57,8 ppb), a espécie inorgânica mais tóxica, sendo, portanto, a amostra que traz mais riscos à saúde humana. Isso mostra que a análise somente do teor de arsênio total é insuficiente para uma avaliação precisa de riscos ressaltando a importância do desenvolvimento de estudos de especificação. A amostra F, também apresentou maior teor de arsênio inorgânico (71,9%).

Excetuando-se nas amostras E e F nas quais há o predomínio de espécies inorgânicas, em todas as demais amostras encontra-se um maior teor de DMA em relação às demais espécies como as amostras estudadas por Farías *et al.* (2015) na Argentina. As amostras A, B, D e I, apresentaram em torno de 50% de espécies inorgânicas e 50% de espécies orgânicas enquanto que as amostras C e G, apresentaram maior teor de espécies orgânicas, como a amostra H.

**Tabela 15.** Especificação de arsênio via HPLC-HG-AFS e comparação do teor de As total ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ ) via análise no ICP-MS

Amostra	As (III)	DMA	MMA	As (V)	As total AFS	% AsIII	%DMA	%MMA	%AsV	As tot ICP	Média	s	RSD%	Erro	Recuperação (%)
1568b	57,4	173,8	11,6	40,7	283,4	20,3	61,3	4,1	14,3	270,5	277,5	9,9	3,6	2,1	102,1
Arroz A	47,9	112,6	7,9	65,9	234,3	20,4	48,1	3,4	28,1	220,3	232,4	17,07	7,3	0,8	100,8
Arroz B	77,7	163,4	2,7	56,6	300,4	25,9	54,4	0,9	18,8	291,4	284,0	10,50	3,7	5,8	105,8
Arroz C	48,9	184,5	2,4	19,8	255,5	19,1	72,2	0,9	7,7	278,2	276,0	3,14	1,1	-7,4	92,6
Arroz D	101,4	112,3	4,3	21,8	239,9	42,3	46,8	1,8	9,1	215,0	218,9	5,61	2,6	9,6	109,6
Arroz E	57,8	18,9	2,5	24,1	103,4	55,9	18,3	2,4	23,4	96,6	94,2	3,37	3,6	9,7	109,7
Arroz F	51,9	37,1	5,9	57,9	152,9	34,0	24,3	3,9	37,9	167,1	173,2	8,6	5,0	11,8	88,2
Arroz G	22,8	122,1	5,3	22,8	172,9	13,2	70,6	3,1	13,2	178,8	178,8			-3,3	96,7
Arroz H	74,3	700,0	7,3	16,8	798,5	9,3	87,7	0,9	2,1	765,6	782,4	23,7	3,0	2,1	102,1
Arroz I	29,2	72,9	3,7	31,4	137,2	21,3	53,1	2,7	22,9	151,8	158,3	9,3	5,9	13,4	86,6

s:desvio padrão, RSD: desvio padrão relativo.

## 2.5. Conclusão

A especiação de arsênio em amostras de arroz utilizando o método desenvolvido é eficiente. A técnica hifenada HPLC-HG-AFS se mostrou seletiva e com alta sensibilidade permitindo a especiação e a quantificação dos baixos teores de arsênio presentes nas amostras analisadas. Utilizando-se os parâmetros otimizados pH 6,2; concentração da fase móvel 20 mmol L<sup>-1</sup>; vazão da fase móvel 0,57 mL min<sup>-1</sup>; concentração de HCl 5,55 % v/v e concentração de NaBH<sub>4</sub> 0,90% m/v, foi possível realizar a especiação do material de referência certificado NIST 1568b com exatidão, além de determinar os teores em nove amostras de arroz com resultados de arsênio total compatíveis aos obtidos via ICP-MS, com taxas de recuperação entre 86 e 110%, de acordo com a faixa de aceitação estabelecida pelo Guia do Mapa (80 e 110%).

## 2.6. Referências Bibliográficas

Abedin, M. J.; Feldmann, J.; Meharg, A. A. Uptake kinetics of arsenic species in rice plants. **Plant Physiol.** 128 (3) (2002) 1120 – 1128.

An, M-I.; Zhang, X.X.; Yang, T.; Chen, M.L.; Wang, J.H. Uptake and speciation of inorganic arsenic with cellulosefibre coated with yttrium hydroxide layer as a novel green sorbent. **Chinese Journal of Chemistry.** 30 (2012) 2225 – 2231.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 42, DE 29 DE AGOSTO DE 2013. Ministério da Saúde. Disponível em <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042\\_29\\_08\\_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042_29_08_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd)>. Acesso em 21/08/2020.

Baluja-Santos, C.; Gonzalez-Portal, A. Application of hydride generation to atomic-absorption spectrometric analysis of wines and beverages: a review. **Talanta** 39 (4) (1992) 329 – 339.

Banerjee, M., Banerjee, N., Bhattacharjee, P., Mondal, D., Lythgoe, P. R., Martinez, M., Pan, J. X., Polya, D.A., Giri, A. K. High arsenic in rice is associated with elevated genotoxic effects in humans. **Scientific Reports** 3 (2013) 1 – 8.

Batista, B. L.; Souza, J. M. O.; De Souza, S. S.; Barbosa Jr, F. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. **Journal Hazard Mater.** 191 (1-3) (2011) 342 – 348.

Barra, C. M.; Santelli, R. E.; Abrão, J. J.; de la Guardia, M. Especificação de arsênio: uma revisão. **Química Nova** 23(1) (2000) 58 – 70.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 6, de 16 de fevereiro de 2009. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 fev. 2009, Seção 1, p. 3.

Carbonell-Barrachina, A. A.; Aarabi, M. A.; Delaune, R. D.; Gambrell, R. P.; Patrick Jr., W. H. The influence of arsenic chemical form and concentration on *Spartina patens* and *Spartina alterniflora* growth and tissue arsenic concentration. **Plant and Soil**. 198 (1) (1998) 33 – 43.

Chen, M. L.; Ma, L. Y.; Chen, X. W. New procedures for arsenic speciation: A review. **Talanta**. 125 (2014) 78 – 86.

Chen, Y. W.; Belzile, N. High performance liquid chromatography coupled to atomic fluorescence spectrometry for the speciation of the hydride and chemical vapour-forming elements As, Se, Sb and Hg: A critical review. **Analytica Chimica Acta** 671 (2010) 9 – 26.

Chen, S. Z.; Zhan, X. L.; Lu, D. B.; Liu, C.; Zhu, L. Speciation analysis of inorganic arsenic in natural water by carbon nanofibers separation and inductively coupled plasma mass spectrometry determination **Analytica Chimica Acta** 634 (2009) 192–196.

Chen, Y.-C.; Zhou, X.-L.; Tong, J.; Truong, Y.; Belzile, N. Photochemical behavior of inorganic and organic selenium compounds in various aqueous solutions. **Analytica Chimica Acta** 545 (2005) 149 – 157.

Ciminelli, V.S.T., *et al.* Dietary arsenic exposure in Brazil: The contribution of rice and beans. **Chemosphere** (2016) 1 – 8.

da Silva, O. F. ageitec: Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fe7457q102wx5eo07qw4xezy8czjj.html>>. Acesso em 09/01/2017.

DOQ-CGCRE 008, INMETRO. "Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos." Rio de Janeiro. Brasil (2016), Revisão 5

Elias, M. C. F.; Oliveira, M.; Vanier, N. L.; Paraginski, R. T.; Schiavon, R. A. Industrialização de arroz por processo convencional e por parboilização. In: Elias, M. C. F.; Oliveira, M.; Vanier, N. L. (Ed.). Qualidade de arroz da pós-colheita ao consumo. Pelotas: Ed. Universidade da UFPEL, 2012. cap. 4, 43 – 55.

FAO-WHO. UN strengthens regulations on lead in infant formula and arsenic in rice. Disponível em: <<http://www.fao.org/news/story/en/item/238802/icode/>>. Acesso em 09/01/2017.

Farías, S. S. *et al.* On-line speciation and quantification of four arsenical species in rice samples collected in Argentina using a HPLC–HG–AFS coupling. **Microchemical Journal** 120 (2015) 34 – 39.

Ferreira, C. M.; Wander, A. E.; Da Silva, O. F. ageitec: Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fok5vmke02wyiv80bhgp5prthhjx4.html>>. Acesso em 09/01/2017.

Gault, A.G.; Rowland, H.A.; Charnock, J.M.; Wogelius, R.A.; Gomez-Morilla, I.; Vong, S.; Leng, M.; Samreth, S.; Sampson, M.L.; Polya, D.A. Arsenic in hair and nailsof individuals exposed to arsenic-rich groundwaters in Kandal province, Cam-bodia. **Science of the Total Environment** 393 (2008) 168 – 176.

Gomes, A.S.; Magalhães Júnior, A. M. Arroz Irrigado no Sul do Brasil, 1ª Ed., EMBRAPA Informação Tecnológica: Brasília, 2004.

Gómez-Ariza, J. L.; Sanchez-Rodas, D.; Giraldez, I.; Morales, E. A comparison between ICP-MS and AFS detection for arsenic speciation in environmental samples. **Talanta**. 51 (2000) 257 – 268.

Guell, R.; Fontas, C.; Salvado, V.; Antico, E. Modelling of liquid-liquid extraction and liquid membrane separation of arsenic species in environmental matrices. **Separation and Purification Technology**. 72 (2010) 319 – 325.

He, B.; Jiang, G. B.; Xu, X. B. Arsenic speciation based on ion exchange high-performance liquid chromatography hyphenated with hydride generation atomic fluorescence and on-line UV photo oxidation. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**. 368 (8) (2000) 803 – 808.

Huang, J. H.; Ilgen, G.; Fecher, P. Quantitative chemical extraction for arsenic speciation in rice grains. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. 25 (2010) 800 – 802.

Hunt, J. R.; Johnson, L. K.; Juliano, B. O. Bioavailability of zinc from cooked Philippine milled, undermilled, and brown rice, as assessed in rats by using growth, bone zinc and zinc retention. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. 50 (18) (2002) 5229 – 5235.

Junior, S. R. G. S. Análise mensal, arroz. Conab. Fevereiro/Março, 2019.

Le, X-C.; Cullen, W.R.; Reimer, K. J. Determination of urinary arsenic and impact of dietary arsenic intake. **Talanta**. 40 (1993) 185 – 193.

Le, X-C.; Cullen, W.R.; Reimer, K.J. Effect of cysteine on the speciation of arsenic by using hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**. 285 (1994) 277 – 285.

Le, X. C.; Ma, M.; Wong, N. A. Speciation of arsenic com-pounds using high performance liquid chromatography atelevated temperature and selective hydride generationatomic fluorescence detection. **Analytical Chemistry**. 68 (1996) 4501– 4506.

Li, G., Sun, G.X., Williams, P.N., Nunes, L., Zhu, Y.G. Inorganic arsenic in Chinese food and its cancer risk. **Environmental International**. 37 (2011) 1219 – 1225.

Lindberg, A. L.; Goessler, W.; Grandner, M.; Nermell, B.; Vahter, M. Evaluation of the three most commonly used analytical methods for determination of inorganic arsenic and its metabolites in urine. **Toxicology Letters**. 168 (3) (2007) 310 – 318.

Liu, L. *et al.* Speciation analysis of arsenic compounds by capillary electrophoresis on-line coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry using a novel interface. **Journal of Chromatography A**. 1304 (2013) 227 – 233.

Liu, L. H.; He, B.; Yun, Z. J.; Sun, J.; Jiang, G. B. Speciation analysis of arsenic compounds by capillary electrophoresis on-line coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry using a novel interface. **Journal of Chromatography A** 1304 (2013) 227 – 233.

Lopez, A.; Torralba, R.; Palacios, M. A.; Camara, C. Generation of AsH<sub>3</sub> from As(V) in the absence of KI as prereducing agent: Speciation of inorganic arsenic **Talanta** 39 (1992) 1343 – 1348.

IBGE Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias - GCEA/IBGE, DPE, COAGRO, Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - Novembro 2016. Atualizada em 08/12/2016. Disponível em <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa\\_201611\\_14.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201611_14.shtm)>

JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), 2011. Evaluation of Certain Contaminants in Food. The seventy-second report, WHO, 1e115.

Ma, J. *et al.* Speciation and detection of arsenic in aqueous samples: A review of recent progress in non-atomic spectrometric methods. **Analytica Chimica Acta**. 831 (2011) 1 – 23.

MAPA e EMBRAPA. Projeções do Agronegócio. Brasil 2014/15 a 2024/25. Projeções de Longo Prazo. Brasília, DF. Julho, 2015.

Meharg, A. A., Williams, P. N., Adomako, E., Lawgali, Y. Y., Deacon, C., Villada, A., Cambell, R.C.J., Sun, G., Zhu, Y.G., Feldmann, J., Raab, A., Zhao, F.J., Islam, R., Hossain, S., Yanai, J. Geographical variation in total and inorganic arsenic content of polished (white) rice. **Environmental Science & Technology**. 43 (2009) 1612 – 1617.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Guia: Validação e Controle de Qualidade Analítica (Fármacos em Produtos para Alimentação Animal e Medicamentos Veterinários), Brasília, 2011.

Narsito, J.; Agterdenbos, J. S. S. Study of processes in the hydride generation atomic absorption spectrometry of antimony, arsenic and selenium. **Analytica Chimica Acta** 237 (1990) 189 – 199.

Narukawa, T. *et al.* Extraction techniques for arsenic species in rice flour and their speciation by HPLC-ICP-MS. **Talanta**. 130 (2014) 213 – 220.

Peng, H. *et al.* Liquid chromatography combined with atomic and molecular mass spectrometry for speciation of arsenic in chicken liver. **Journal of Chromatography A**. 1370 (2014) 40 – 49.

Pereira, J. A. *Cultura do arroz no Brasil: subsídios para sua história*. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2002. 226p.

Pilau, J. E., Desenvolvimento de novas metodologias para a especiação de arsênio em águas e matrizes salinas empregando voltametria adsorptiva de redissolução catódica, in Centro de Ciências Naturais e Exatas. 2005, Universidade Federal de Santa Maria: Santa Maria - RS. p. 97.

Rahman, M. A. e Hasegawa, H. High levels of inorganic arsenic in rice in areas where arsenic-contaminated water is used for irrigation and cooking. **Science of the Total Environment** 409 (2011) 4645 – 4655

Sanchez-Rodas, D.; Corns, W. T.; Chen, B.; Stockwel, P. B. Atomic Fluorescence Spectrometry: a suitable detection technique in speciation studies for arsenic, selenium, antimony and mercury. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. 25 (2010) 933 – 946.

Šlejkovec, Z.; Bajc, Z.; Doganoc, D. Z. Arsenic speciation patterns in freshwater fish. **Talanta**. 62 (5) (2004) 931 – 936.

Sofuoglu, S. C. *et al.* Speciated arsenic concentrations, exposure, and associated health risks for rice and bulgur. **Food and Chemical Toxicology**. 64 (2014) 184 – 191.

Souza, J. M. O. *et al.* Arsênio e arroz: toxicidade, metabolismo e segurança alimentar. **Química Nova**. 38 (1) (2015) 118 – 127.

Sun, G-X; Williams, P. N.; Zhu, Y-G.; Deacon, C.; Carey, A. M.; Raab, A.; Feldmann, J.; Meharg, A. A. Survey of arsenic and its speciation in rice products such as breakfast cereals, rice crackers and Japanese rice condiments. **Environment International**. 35 (3) (2009) 473 – 475.

Vieira, N. R. A.; Rabelo, R. R. Qualidade tecnológica. In: Santos, A. B.; Stone, L. F.; Vieira, N. R. A. **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. Santo Antônio da Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. cap. 23. p. 869 – 900.

Vilano, M.; Padro, A.; Rubio, R. Coupled techniques based on liquid chromatography and atomic fluorescence detection for arsenic speciation. **Analytica Chimica Acta**. 411(1-2) (2000) 71 – 79.

Walter, M.; Marchezan, E.; Avila, L. A. Arroz: composição e características nutricionais – Revisão Bibliográfica. **Ciência Rural**, Santa Maria. 38 (4) (2008) 1184 – 1192.

Williams, P. N., Villada, A., Deacon, C., Raab, A., Figuerola, J., Green, A. J., Feldmann, J., Meharg, A. A. Greatly enhanced arsenic shoot assimilation in rice leads to elevated grain levels compared to wheat and barley. **Environmental Science & Technology**. 41 (2007) 6854 – 6859.

Zhao, F. J., Zhu, Y. G., Meharg, A. A. Methylated arsenic species in rice: geographical variation, origin, and uptake mechanisms. **Environmental Science & Technology**. 47 (2013) 3957 – 3966.

**CAPÍTULO 3 – Uso de hidróxido duplo lamelar incorporado com nitroprussiato para adsorção de arsênio orgânico e inorgânico de matrizes aquosas**

### 3.1. Introdução

A contaminação química de águas por arsênio tem despertado preocupação mundial devido aos sérios problemas à saúde humana que a exposição a longo prazo a altos níveis de arsênio pode causar. A sua toxicidade está relacionada à forma química na qual ele se encontra. As formas orgânicas de arsênio, ácido monometilarsênico (MMA) e ácido dimetilarsínico (DMA) são pouco tóxicas (Liu *et al.*, 2013). No entanto, o arsênio é mais comumente encontrado como oxianion em compostos inorgânicos nas formas As(III) ( $\text{H}_2\text{AsO}_3^-$ ,  $\text{HAsO}_3^{2-}$  e  $\text{AsO}_3^{3-}$ ) e As(V) ( $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{HAsO}_4^{2-}$  e  $\text{AsO}_4^{3-}$ ) sendo a forma trivalente muito mais tóxica que a pentavalente (Shamsipur *et al.*, 2014).

A concentração de As total nas águas subterrâneas globais varia de 0,5 a 5000  $\mu\text{g L}^{-1}$ , superando muito o valor recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA, em inglês), de 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Lee *et al.*, 2018 e Mukhopadhyay *et al.*, 2019). Assim, a contaminação por arsênio em água potável é considerada um problema emergencial pois a exposição em longo prazo a altos níveis desse metaloide pode estar associada ao desenvolvimento de diversos tipos de câncer, doenças cardiovasculares e respiratórias, distúrbios no sistema nervoso e diabetes (Islam *et al.*, 2017). Estudos mostram que pessoas residentes nos países do sudeste da Ásia como Vietnã (Hanh *et al.*, 2011), Laos (Chanpiwat *et al.*, 2011) e Camboja (Phan *et al.*, 2013) sofrem de doenças crônicas devido à contaminação por arsênio a partir da ingestão de água contaminada (Lee *et al.*, 2018). Diante disso, torna-se cada vez mais importante o desenvolvimento de métodos que sejam capazes de remover arsênio de águas.

Processos de adsorção estão entre os mais eficientes e utilizados para remover contaminantes de águas (Burakov *et al.*, 2018) além de serem muito atrativos devido ao baixo custo e facilidade de operação (S. H. Lee *et al.*, 2018). Diferentes adsorventes como materiais

carbonáceos, lama vermelha, solos lateríticos, bauxita calcinada, resinas, minerais de argila, óxidos e hidróxidos metálicos têm sido utilizados para remover arsênio de águas contaminadas (Türk *et al.*, 2009). Muitos desses adsorventes têm limitações relacionadas à dificuldade de síntese, baixa capacidade de adsorção e risco secundário de poluição (Mukhopadhyay *et al.*, 2019). Assim, faz-se necessário o estudo de novos materiais que superem estas limitações. Recentemente, o uso de hidróxidos duplos lamelares tem mostrado grande potencial para remoção de contaminantes de águas devido à sua grande área superficial, grande capacidade para troca aniônica e boa estabilidade térmica (Asiabi *et al.*, 2017), além disso a sua síntese é relativamente simples e barata (Goh *et al.*, 2008).

### 3.1.1. Uso de hidróxidos duplos lamelares (HDL) para remoção de arsênio de águas

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL) também chamados compostos de hidrotalcita têm a sua estrutura descrita a partir da estrutura da brucita,  $Mg(OH)_2$ , na qual os cátions  $Mg^{2+}$  estão localizados no centro de uma estrutura octaédrica com grupos hidroxila em seus vértices. Os octaedros formados compartilham arestas para formar lamelas. Quando um cátion divalente é substituído isomorficamente por um trivalente, a lamela fica com carga positiva e são estabilizadas com moléculas de água e ânions inseridos no espaço interlamelar (Asiabi *et al.*, 2017 e Da Silva *et al.*, 2003).

A estrutura química dessa classe de compostos é descrita pela fórmula  $[M_{1-x}^{2+}M_x^{3+}(OH)_2]A_{x/m}^{m-} \cdot nH_2O$  onde  $M^{2+}$  = cátion metálico divalente;  $M^{3+}$  = cátion metálico trivalente;  $A^{m-}$  = ânion intercalado com carga m-;  $x$  = razão  $M^{3+}/(M^{3+} + M^{2+})$  sendo  $0,20 \leq x \leq 0,33$  (Kameda *et al.*, 2015); e  $n$  = número de mols de água. A razão molar  $M^{3+}/(M^{3+} + M^{2+})$  está relacionada com a densidade de carga na lamela do HDL o que por sua vez está relacionado às propriedades estruturais (um aumento nesta razão diminui a cristalinidade do material) e de

troca iônica (quanto maior essa razão, menor a densidade de cargas e menor a quantidade relativa de ânions) (Crepaldi e Valim 1998). Uma grande variedade de HDLs pode ser obtida variando-se os cátions  $M^{+2}$  e  $M^{+3}$ , bem como a sua carga, e o ânion  $A^{-m}$  intercalado.

O uso de HDLs para remover arsênio de águas tem se mostrado promissor. Segundo Gillman (2006), a similaridade existente entre as estruturas dos ânions do As (III) e As (V) com os ânions fosfato pode justificar a eficiência de remoção desses ânions por hidrotalcitas (HT). Em seu trabalho, Gillman (2006) usou HT- $NO_3$  e HT-Cl para remoção de arsênio e obteve para o As (III), concentração inicial  $432 \mu g L^{-1}$ , usando 2500 mg HT/500 mL de água, uma diminuição para  $58 \mu g L^{-1}$  (após 1 hora) e  $6 \mu g L^{-1}$  (após 18 horas) com HT- $NO_3$  e uma diminuição para  $168 \mu g L^{-1}$  (após 1 hora) e  $4 \mu g L^{-1}$  (após 18 horas) com HT-Cl. Para a remoção do As (V) Gillman (2006) fez uma espécie de filtro com 350 g de HT-Cl e após filtrar 1000 mL de água contendo  $400 \mu g L^{-1}$  de As (V), o As residual foi de apenas  $2,3 \mu g L^{-1}$  e após filtrar 8500 mL com esse mesmo filtro, o As residual foi de apenas  $2,4 \mu g L^{-1}$ .

Türk *et al.* (2009), em seu trabalho usou Mg-Fe- $CO_3$ -HT e conseguiu uma alta eficiência de remoção do As (V) reduzindo a sua concentração inicial de  $300 \mu g L^{-1}$  para um teor final menor que  $10 \mu g L^{-1}$ . Nesse caso, não houve influência significativa do pH e o modelo de Langmuir foi o que descreveu melhor a adsorção do As (V) no FeHT.

HDLs contendo ferro são promissores para remoção de arsênio devido à grande afinidade que o arsênio tem por óxidos e hidróxidos de ferro (Guoa *et al.*, 2012). Isso se explica pelo fato de que em ambientes naturais, o arsênio é encontrado na superfície de óxidos de ferro (Türk *et al.*, 2009). Guo *et al.*, (2012) em seu trabalho usou Cu/Mg/Fe/La-HDL com carbonato intercalado, para remover As (V) e verificou que quanto menor o pH, mais eficiente era a remoção do arsênio. Além disso, o aumento do teor de lantânio no HDL também foi responsável por um aumento na eficiência de remoção do arsênio. Utilizando o adsorvente na concentração

1,5 g L<sup>-1</sup>, para remover As (V) em concentração 5 mg L<sup>-1</sup>, a dosagem final de As (V) após a adsorção foi menor que 10 µg L<sup>-1</sup>. O modelo de Langmuir se ajustou bem a esse processo de adsorção.

Lee *et al.*, (2018) usou Mg-Al-HDL calcinado e não calcinado para remover As (V). A capacidade de remoção usando Mg-Al-HDL não calcinado foi de 19,7 mg g<sup>-1</sup> e aumentou com o aumento da temperatura de calcinação com um máximo em 400 °C e capacidade de remoção de 103 mg g<sup>-1</sup>. A 500 °C a eficiência de remoção se manteve mas começou a diminuir a 600 °C. Foi observada uma diminuição da eficiência de remoção do As (V) com o aumento do pH. O meio ácido foi o que apresentou maior eficiência para remoção do As (V). Segundo os autores isso se deve ao fato de que, em geral, a superfície dos adsorventes possui carga positiva abaixo do PZC (ponto de carga zero) o que favorece a remoção de ânions por atração eletrostática e a diminuição da eficiência de remoção em pH 11,00 é provavelmente derivada de uma repulsão eletrostática (H<sub>3</sub>AsO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>AsO<sub>3</sub><sup>-</sup>, HAsO<sub>4</sub><sup>-2</sup> e AsO<sub>4</sub><sup>-3</sup>, pK<sub>a1</sub> = 2,3, pK<sub>a2</sub> = 6,8 e pK<sub>a3</sub> = 11,6). Além disso, a eficiência de remoção de íons contaminantes por adsorção é influenciada pelo tamanho do íon e densidade de carga e também pela área da superfície do adsorvente (Lee *et al.*, 2018). A máxima capacidade de remoção obtida para o As (V) usando o adsorvente não calcinado foi 22,6 mg g<sup>-1</sup> e usando o adsorvente calcinado foi 102,9 mg g<sup>-1</sup>.

No presente trabalho foi utilizado HDL incorporado com nitroprussiato (pentacianonitrosilferrato (II), [Fe(CN)<sub>5</sub>NO]<sup>2-</sup>) para avaliar seu potencial de adsorção para diferentes espécies de arsênio (As (III), As (V) e DMA) baseado na grande afinidade que o arsênio tem por espécies contendo ferro (Guoa *et al.*, 2012; Türk *et al.*, 2009).

### 3.1.2. Adsorção

A adsorção é um fenômeno superficial no qual uma determinada espécie química se concentra preferencialmente na região da interface em comparação às fases que se encontram em contato e está relacionada com a habilidade de certos sólidos (adsorventes) concentrarem em sua superfície determinadas substâncias (adsorvatos) existentes em fluidos líquidos ou gasosos, possibilitando a remoção dessas substâncias do fluido (Nascimento *et al.*, 2014).

A quantidade de um soluto adsorvida sobre a superfície de um material adsorvente, também conhecida como capacidade de adsorção do adsorvente, ( $q_e$ ) pode ser obtida por:

$$q_e = \frac{(C_o - C_e)V}{m} \quad \text{Eq. 9}$$

Onde  $C_o$  é a concentração inicial e  $C_e$  é concentração de equilíbrio do adsorvato na fase fluida,  $V$  é o volume da fase fluida e  $m$  é massa do adsorvente, em que  $C_e$  pode ser obtido por meio da análise do teor de adsorvato presente no fluido por meio de técnicas analíticas adequadas. A curva que relaciona a quantidade de soluto adsorvida ( $q_e$ ) com a concentração de equilíbrio do adsorvato na fase fluida ( $C_e$ ), a uma dada temperatura constante, é denominada isoterma de adsorção, cuja análise pode fornecer informações sobre a afinidade entre o adsorvato e o adsorvente (Nasir *et al.*, 2019). Muitos modelos são propostos para ajustar uma função matemática aos dados experimentais de isotermas, a fim de obter tais informações, sendo propostas funções com dois ou mais parâmetros de ajuste. Dentre os modelos mais comumente utilizados, encontram-se os de Langmuir e Freundlich (Nascimento *et al.*, 2014).

#### 3.1.2.1. Isotherma de Langmuir

O modelo proposto por Langmuir considera que a adsorção ocorre em uma monocamada com um número fixo de sítios por unidade de área e energeticamente equivalentes. Além disso, cada sítio pode interagir com apenas uma molécula do adsorvato, não

havendo interações adsorvato-adsorvato sobre a superfície do adsorvente (Nascimento *et al.*, 2014). A isoterma de Langmuir é representada matematicamente pela equação 10, cuja forma linearizada encontra-se na equação 11:

$$q_e = \frac{q_{m\acute{a}x}K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad \text{Eq. 10}$$

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{m\acute{a}x}} C_e + \frac{1}{K_L q_{m\acute{a}x}} \quad \text{Eq. 11}$$

Em que  $q_e$  representa a quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ ),  $q_{m\acute{a}x}$  representa a capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg g}^{-1}$ ),  $K_L$  representa a constante de Langmuir ( $\text{L mg}^{-1}$ ) e  $C_e$  representa a concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ ) Nasir *et al.*, 2019).

### 3.1.2.2. Isoterma de Freundlich

O modelo de Freundlich é anterior ao modelo de Langmuir e totalmente empírico, tendo sido uma das primeiras propostas de ajustar uma equação matemática a dados de isotermas de adsorção. Tal modelo pode ser aplicado a sistemas não ideais, em superfícies heterogêneas e adsorção em multicamada (Liu e Zhang 2015). Apesar de este modelo não prever uma saturação da superfície do adsorvente, ele fornece indícios de que o material apresenta sítios com diferentes energias adsortivas (Nascimento *et al.*, 2014). Este modelo empírico é representado pela equação 12 e sua forma linearizada está representada na equação 13:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad \text{Eq. 12}$$

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad \text{Eq. 13}$$

Em que  $q_e$  representa a quantidade de soluto adsorvido na fase sólida ( $\text{mg g}^{-1}$ ),  $C_e$  representa a concentração de equilíbrio do adsorvato em solução ( $\text{mg L}^{-1}$ ),  $1/n$  é a constante relacionada à

heterogeneidade da superfície do adsorvente e  $K_F$  é a constante de Freundlich [ $(\text{mg}^{(1-1/n)} (\text{g}^{-1}) \text{L}^{1/n})$ ].

Adsorções favoráveis são observadas para valores de  $n$  entre 1 e 10. Quanto maior o valor de  $n$  (menor valor de  $1/n$ ), mais forte a interação entre o adsorvato e o adsorvente. Por outro lado, se  $1/n$  for igual a 1, isso indica que a adsorção é linear, ou seja, as energias são idênticas para todos os sítios de adsorção (Nascimento et al., 2014).

## **3.2. Objetivos**

### **3.2.1. Objetivo geral**

Avaliar a capacidade de remoção seletiva de diferentes espécies de arsênio (As (III), As (V) e DMA) utilizando como adsorvente HDL incorporado com ânion nitroprussiato (HDL-NP).

### **3.2.2. Objetivos específicos**

- Sintetizar e caracterizar o HDL-NP utilizando as técnicas de difração de raios X (DRX), análise termogravimétrica (TG), espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e espectroscopia Raman;
- Avaliar o potencial do novo material para remoção das espécies As (III), As (V) e DMA de matrizes aquosas, em diferentes valores de pH;
- Realizar estudos de isoterma e cinética de adsorção;
- Caracterizar o material HDL-NP saturado com As (V).

## **3.3. Experimental**

### **3.3.1. Instrumentação**

Uma estufa de secagem (QUIMIS) foi utilizada para secagem do material no processo de síntese do HDL. Uma mufla (FORNITEC) foi utilizada para calcinar o material sintetizado.

Um pHmetro HI2221 (HANNA Instruments) foi utilizado para o preparo das águas de pH. Uma incubadora refrigeradora com agitação TE-424 (Tecnal) foi utilizada à 55 °C para síntese do HDL e HDL-NP e a 25 °C e 150 rpm para manter a agitação dos erlenmeyers contendo o adsorvente e a solução aquosa de arsênio. Uma centrífuga Mod. 280, Excelsa 3 (Fanem) foi utilizada para separar a fase sólida da fase líquida, permitindo a coleta desta última para posterior análise via ICP-MS.

Um Espectrômetro Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) Varian 725 – ES foi utilizado para determinar o teor de arsênio presente nos ensaios.

Um difratômetro PANalytical modelo X'Pert3 Powder foi utilizado para medidas de difração de raios X (XRD). Um analisador termogravimétrico DTG60-SHIMADZU foi utilizado para análise termogravimétrica. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) foi realizada em um aparelho ABB Bomen MB 3000 FTIR (Quebec, Canada). Medidas de espectroscopia vibracional Raman foram realizadas em um espectrômetro Horiba Jobin-Yvon LABRAM HR.

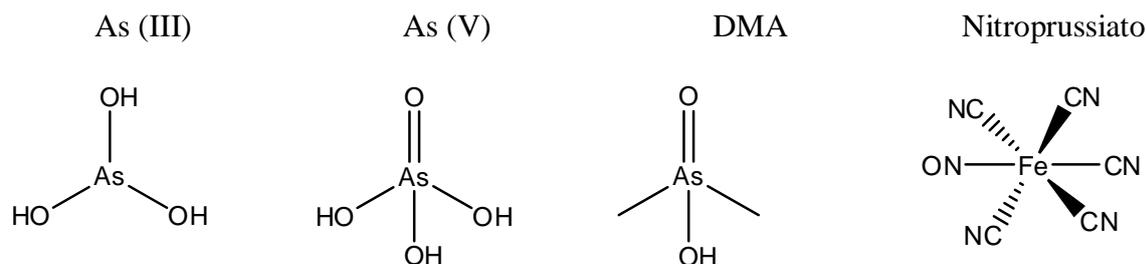
### 3.3.2. Reagentes

Todos os reagentes foram utilizados como recebidos, sem nenhum processo de purificação adicional. Água deionizada foi usada para preparar todas as soluções. As especificações dos reagentes, a pureza e fornecedores são mostrados na Tabela 16. A Figura 18 apresenta as estruturas químicas das espécies de As avaliadas e do ânion nitroprussiato.

**Tabela 16.** Características dos reagentes utilizados

Reagente	Fórmula Química	Pureza	Fornecedor
Nitrato de magnésio	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	98.0-102.0%	Sigma - Aldrich

Nitrato de alumínio	$\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	98.0%	Vetec
Nitroprussiato de sódio	$\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	99.0-102.0%	Vetec
Ácido nítrico	$\text{HNO}_3$	65.0%	Synth
Hidróxido de sódio micropérola	$\text{NaOH}$	99.0%	Synth
Ácido Clorídrico	$\text{HCl}$	37%	Neon
Arseniato de sódio heptahidratado	$\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	98.0%	Merck
Arsenito de sódio	$\text{AsNaO}_2$	$\geq 99.0\%$	Sigma-Aldrich
Ácido cacodílico	$\text{C}_2\text{H}_7\text{AsO}_2$	$\geq 99.0\%$	Aldrich

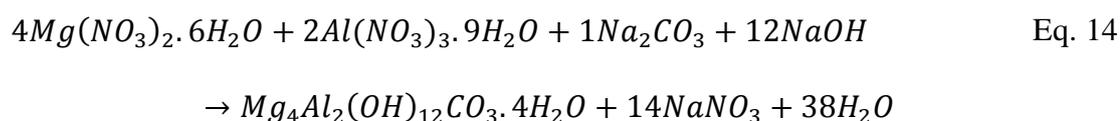


**Figura 18.** Representação estrutural das espécies de arsênio estudadas e do nitroprussiato

### 3.3.3. Síntese e caracterização do hidróxido duplo lamelar (HDL)

#### 3.3.3.1. Preparo do HDL Mg – Al – $\text{CO}_3$

A reação de síntese do HDL convencional (Teixeira et al., 2018) pode ser representada pela seguinte equação:

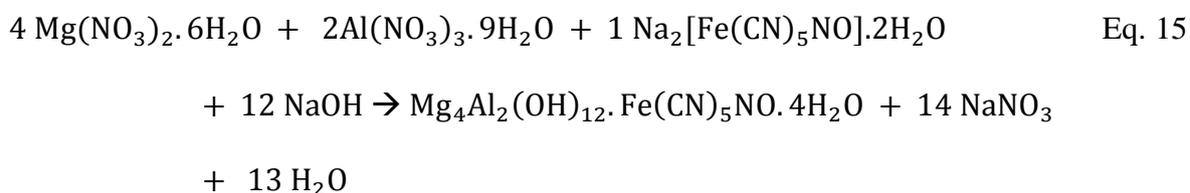


O método de coprecipitação a pH constante foi utilizado para sintetizar o HDL. A reação de síntese possui uma razão molar Mg:Al igual a 2:1 e ocorre em presença de NaOH e  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . As soluções dos cátions magnésio e alumínio foram preparadas, onde 105,228 g de  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  foram diluídos em 100 mL de água deionizada e 76,975 g de  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  em 62,5 mL de água deionizada. Essas duas soluções foram misturadas. Uma bureta foi usada para adicionar essa solução de cátions gota a gota em um béquer contendo 102,6 mL da solução

de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1 mol L<sup>-1</sup>). Simultaneamente uma outra bureta foi usada para transferir gota a gota 123,11 mL da solução de NaOH (10 mol L<sup>-1</sup>) nesse mesmo béquer. Durante o processo de reação, que durou 240 minutos, o conteúdo do béquer foi constantemente agitado utilizando um agitador mecânico e a temperatura foi mantida a 40 °C com banho maria. Após o término da reação, o gel formado foi levado para uma incubadora refrigeradora com agitação durante 30 horas à temperatura de 55 °C. Posteriormente, o material resultante foi lavado com água deionizada por 10 vezes para remover sais residuais. Após a adição de água para lavar, utilizou-se a centrífuga para separar o sobrenadante que posteriormente foi descartado. O material sólido final foi então deixado em uma estufa a 50 °C até completa secagem. Em seguida foi realizada a maceração deste material para obtenção de um pó.

### 3.3.3.2. Preparo do hidróxido duplo lamelar Mg – Al – Fe(CN)<sub>5</sub>NO

A reação de síntese do HDL intercalado com nitroprussiato (da Silva et al., 2003) pode ser representada pela seguinte equação:



O HDL foi sintetizado pelo método de coprecipitação a pH constante. A reação de síntese possui uma razão molar Mg:Al igual a 2:1, em presença de NaOH e Na<sub>2</sub>[Fe(CN)<sub>5</sub>NO]. Para preparar a solução de cátions, 7,9750 g de Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O foram diluídos em 10,0 mL de água deionizada e 5,8320 g de Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O em 10,0 mL de água deionizada. Essas duas soluções foram misturadas. 3,0108 g de nitroprussiato de sódio foram solubilizados em 10 mL de água deionizada. Uma bureta foi usada para adicionar as soluções de cátions gota a gota no béquer que continha a solução de nitroprussiato. Durante a reação, o pH da solução foi corrigido

utilizando uma solução de NaOH (10 mol L<sup>-1</sup>), onde foi usado 10,0 mL desta solução. O conteúdo do béquer foi constantemente agitado utilizando um agitador mecânico durante o processo de reação e a temperatura foi mantida a 40 °C com banho maria. Este processo durou cerca de 240 minutos. Após este período, o gel formado foi levado para a incubadora refrigeradora com agitação durante 24 horas à temperatura de 55 °C. Então foi feita a lavagem do HDL com água deionizada por 10 vezes utilizando uma centrífuga. O material sólido gerado foi levado para estufa a 50 °C até completa secagem. Foi feita a maceração deste material, para obtenção de um pó.

#### **3.3.4. Comparação do potencial de remoção do As entre o HDL convencional e HDL-NP**

O procedimento abaixo descrito foi feito em pH 2,00; pH 6,02 e pH 12,00 para as espécies As (III), As (V) e DMA utilizando como adsorvente o HDL convencional e o HDL-NP. Para cada estudo foi feito também um branco ao qual se adicionou apenas a água de pH ao adsorvente.

Inicialmente, uma solução de arsênio foi preparada com concentração 10,00 mg L<sup>-1</sup> em pH 2,00. 0,0200 g de adsorvente foi pesado em um erlenmeyer de 125 mL no qual foi adicionado 15,0 mL da solução 10,00 mg L<sup>-1</sup> de arsênio. Esse ensaio foi feito em duplicata. As amostras foram levadas para a incubadora refrigeradora com agitação de 150 rpm durante 24 horas à temperatura de 25 °C. Após esse tempo, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante foi coletado para leitura no ICP-OES.

Para avaliar o potencial de remoção do arsênio por cada um dos adsorventes calculou-se a porcentagem de extração de acordo com a equação abaixo:

$$\%E = \frac{[As]_{inicial} - [As]_{final}}{[As]_{inicial}} \times 100 \quad \text{Eq. 16}$$

### 3.3.5. Isotermas de Adsorção

Para cada espécie de arsênio estudada (As (III), As (V) e DMA) foram feitas 3 isotermas: em pH 2,00; pH 6,02 e pH 12,00. A massa do adsorvente foi mantida 0,0200 g e aumentou-se gradativamente a concentração de arsênio: 10, 20, 30, 40, 60, 80 e 100 mg L<sup>-1</sup> para As (III) e DMA e 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 150 e 200 mg L<sup>-1</sup> para As (V). As amostras foram levadas para a incubadora refrigeradora com agitação de 150 rpm durante 24 horas à temperatura de 25 °C. Após esse tempo, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante foi coletado para posterior diluição e leitura no ICP-OES.

Foi feito o cálculo de  $q_e$  de acordo com a equação 17.

$$q_e = \frac{(C_o - C_e)V}{m} \quad \text{Eq. 17}$$

### 3.3.6 Estudo de cinética

Esse estudo foi feito apenas para o As (V). A massa do adsorvente HDL-NP foi mantida 0,0200 g ao qual foi adicionada uma solução 20 mg L<sup>-1</sup> de As (V). As amostras foram levadas para a incubadora refrigeradora a 25 °C com agitação de 150 rpm pelos seguintes tempos: 30 min, 1, 3, 5, 7, 9 12, 16, 20 e 24 horas. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante foi coletado para leitura no ICP-OES. Todos os experimentos foram feitos em duplicata.

### 3.3.7. Caracterização dos HDLs

As propriedades dos materiais sintetizados antes e após a adsorção das espécies de arsênio foram investigadas através das técnicas:

a) *Difratometria de Raios-X (DRX)*

As análises de difração de raios X foram realizadas em um difratômetro PANalytical, modelo X'Pert3Powder do DEMIN/UFOP utilizando uma faixa de varredura ( $2\theta$ ) de  $5^\circ$  a  $90^\circ$ , a um passo de  $2^\circ$  por minuto.

*b) Microscopia eletrônica de Transmissão (TEM)*

Características morfológicas, químicas e estruturais das amostras foram investigadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e técnicas relacionadas: difração de elétrons de área selecionada (SAED), espectroscopia dispersiva de energia (EDS) e perda de energia de elétrons espectroscopia (EELS). A microscopia eletrônica de transmissão (MET) foi realizada no Centro de Microscopia da UFMG, em um equipamento Tecnai G2-20-FEI. O microscópio de transmissão foi empregado a 200 kV em pós dispersos em isopropanol e ultra-sônicos por 15 min. Redes de carbono-cobre de malha # 300 foram utilizadas como suporte para todas as amostras investigadas. As medidas foram feitas a fim de investigar características morfológicas do material produzido antes e após a adsorção do As (V).

*c) Análise Termogravimétrica (ATG/DTG)*

As análises termogravimétricas (ATG/DTG) foram realizadas em um equipamento DTG60-SHIMADZU do Departamento de Química/UFMG. Foi feito aquecimento da temperatura ambiente a  $600^\circ\text{C}$ , razão de aquecimento =  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ , em atmosfera de  $\text{N}_2$  ( $50\text{ mL min}^{-1}$ ) e cadinho de alumina. A ATG mede a variação da massa da amostra em função da temperatura e sua curva resultante fornece informações quanto à estabilidade térmica da amostra inicial e a DTG, derivada da análise termogravimétrica, fornece a derivada da mudança de massa em função da temperatura.

*d) Espectroscopia na região do infravermelho*

As medidas espectroscópicas de transmissão no infravermelho (IV) foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia no Infravermelho, ICEB-UFOP, em um aparelho ABB Bomen

MB 3000 FTIR (Quebec, Canada). As análises foram feitas pela comparação das bandas obtidas com as bandas características dos HDL.

e) *Espectroscopia Raman*

Espectros Raman foram obtidos a partir de um Espectrômetro Horiba Jobin-Yvon LABRAM HR, com linha de excitação 632,8 nm de laser de hélio-neon (com potência efetiva de 6 mW na superfície na amostra) localizado no Laboratório de Espectroscopia Raman, Departamento de Química/UFOP. Um microscópio confocal *Olympus* (objetiva de 100X) (objetiva de 100X) foi utilizado e a resolução experimental típica foi de  $1\text{ cm}^{-1}$  para 10 acumulações de 10 s. O objetivo é verificar a presença das vibrações características das estruturas lamelares dos HDLs.

f) *Ponto de carga zero*

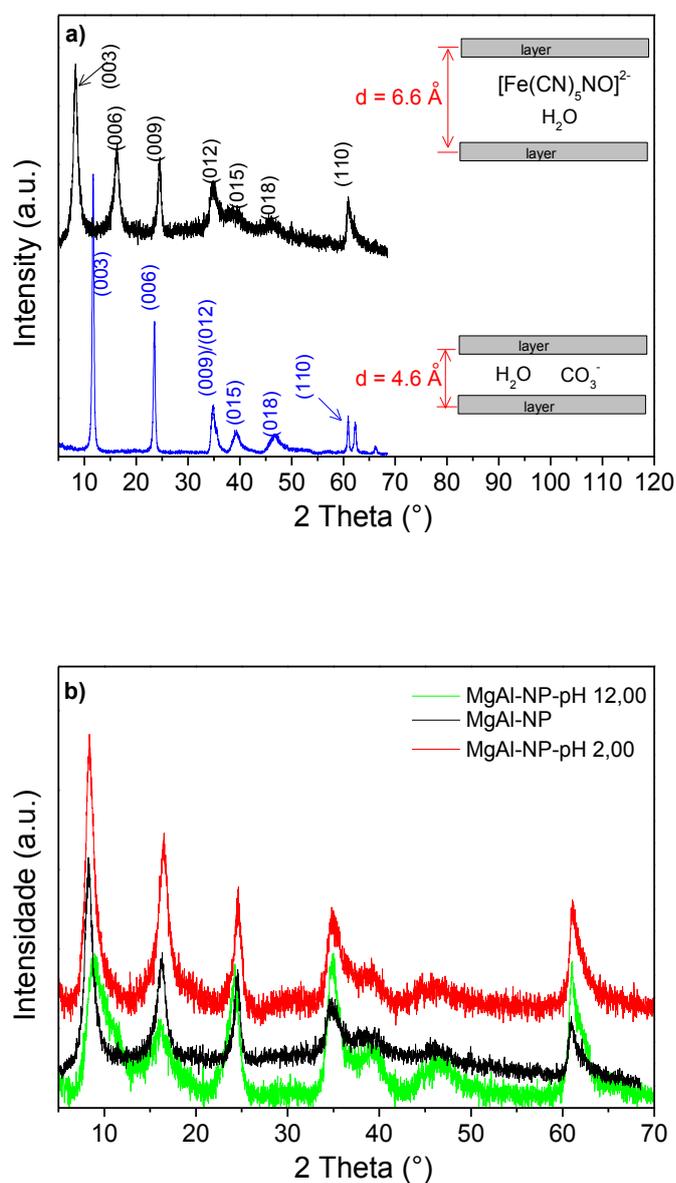
O ponto de carga zero (PZC) do HDL-NP foi obtido a partir da seguinte metodologia: 0,0250 g do material foram adicionados a 25 mL de solução de NaCl  $0,1\text{ mol L}^{-1}$  em água deionizada com pH inicial ajustado em 2,01; 4,00; 5,98; 8,08; 10,01; e 11,99. O ajuste do pH foi feito com soluções de HCl ( $0,1$  ou  $1\text{ mol L}^{-1}$ ) ou NaOH ( $0,1$  ou  $1\text{ mol L}^{-1}$ ). Então, as amostras contendo a mistura de HDL-NP com cada solução de pH ajustado foram agitadas por 24 horas, a 150 rpm e  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após este tempo, os sobrenadantes foram coletados para a leitura do pH final. A diferença entre o pH final e o pH inicial ( $\Delta\text{pH}$ ) foi plotada contra o pH inicial e o PCZ foi definido como o valor de pH inicial no qual  $\Delta\text{pH}$  foi zero. Experimentos foram realizados em triplicata.

### **3.4. Resultados e Discussão**

#### **3.4.1. Caracterização do adsorvente**

##### **3.4.1.1. Difração de Raio X (DRX)**

A Figura 19 mostra o difratograma do hidróxido duplo lamelar de magnésio e alumínio (Mg–Al–HDL) e intercalado com nitroprussiato (Mg–Al–HDL–NP), antes e após a adsorção de As (V).



**Figura 19.** Padrões de DRX em pó para (a) Mg-Al-HDL (linha azul) e Mg-Al-HDL-NP (linha preta); (b) Mg-Al-HDL-NP antes (linha preta) e após a remoção de As (V) em meio ácido, pH 2,00 (linha vermelha) e meio básico, pH 12,00 (linha verde)

Na Figura 19a, o difratograma convencional Mg-Al-HDL é apresentado juntamente com o intercalado com nitroprussiato Mg-Al-HDL-NP, para comparar e enfatizar o aumento do espaço basal (veja o esquema desenhado à direita). A partir desses dados é possível verificar o nitroprussiato (NP) intercalado, o que causa um aumento do espaço de aproximadamente 42%. Após a intercalação do NP, o espaço basal foi de 6,6 Å, o que está de acordo com o tamanho do complexo aniônico do metal de transição (NP) (Bocclair *et al.*, 1999 e da Silva *et al.*, 2003). Os materiais exibiram padrões de difração característicos da estrutura da hidrotalcita, com reflexões nítidas e simétricas dos planos basais (003), (006), (009); e reflexões assimétricas dos planos não basais (012), (015), (018). Os planos basais (00*l*) estão relacionados ao empilhamento das lamelas, os planos não basais (*hk*0) estão relacionados à organização da estrutura dentro das lamelas, enquanto os planos (0*kl*) estão relacionados à ordenação de uma lamela em relação a outra (Bukhtiyarova 2019). Assim, podemos observar um deslocamento azul dos planos basais relacionados à intercalação do NP.

Na Figura 19b é possível observar que a adsorção do As (V) não alterou a estrutura do material, uma vez que as amostras antes e após a adsorção do arsênio exibiram o mesmo padrão de difratograma. Os parâmetros de rede *a* e *c* foram calculados de acordo com Pérez-Ramírez *et al.* (2001), para uma célula unitária hexagonal assumindo um politipismo 3R para a hidrotalcita. O valor da constante *a* da célula é calculado como  $a = 2 \times d_{(110)}$  e corresponde à distância média dos cátions presentes nas lamelas da estrutura do HDL. O parâmetro *c* está relacionado à espessura das lamelas e distância entre lamelas e é comumente calculado como  $c = 3 \times d_{(003)}$ . No entanto, foi proposto que *c* pode ser melhor determinado pela média da posição dos picos de difração correspondentes aos planos basais:  $c = 3/2 \{d_{(003)} + [2 \times d_{(006)}]\}$  ou  $c = \{d_{(003)} + [2 \times d_{(006)}] + [3 \times d_{(009)}]\}$  (Pérez-Ramírez *et al.*, 2001). Neste trabalho foi utilizada a segunda fórmula pois as posições de todos os planos basais foram facilmente identificadas.

A Tabela 17 exibe os valores de parâmetros de rede e espaço basal.

**Tabela 17.** Parâmetros de rede, espaço basal e tamanho do cristalito para o HDL

Composto	Distância Interplanar (Å)			Espaço Basal (Å)	Parâmetro de rede (Å)		Tamanho do cristalito (nm)
	d <sub>003</sub>	d <sub>006</sub>	d <sub>009</sub>		a	C	
Mg-Al-HDL	7,57	3,78	2,57	4,64	3,04	22,84	23
Mg-Al-HDL-NP	10,65	5,43	3,62	6,57	3,04	32,37	8
Mg-Al-HDL-NP (pH 2,00)	10,56	5,37	3,61	6,51	3,04	32,13	6
Mg-Al-HDL-NP (pH 12,00)	9,92	5,50	3,67	6,36	3,04	31,93	5

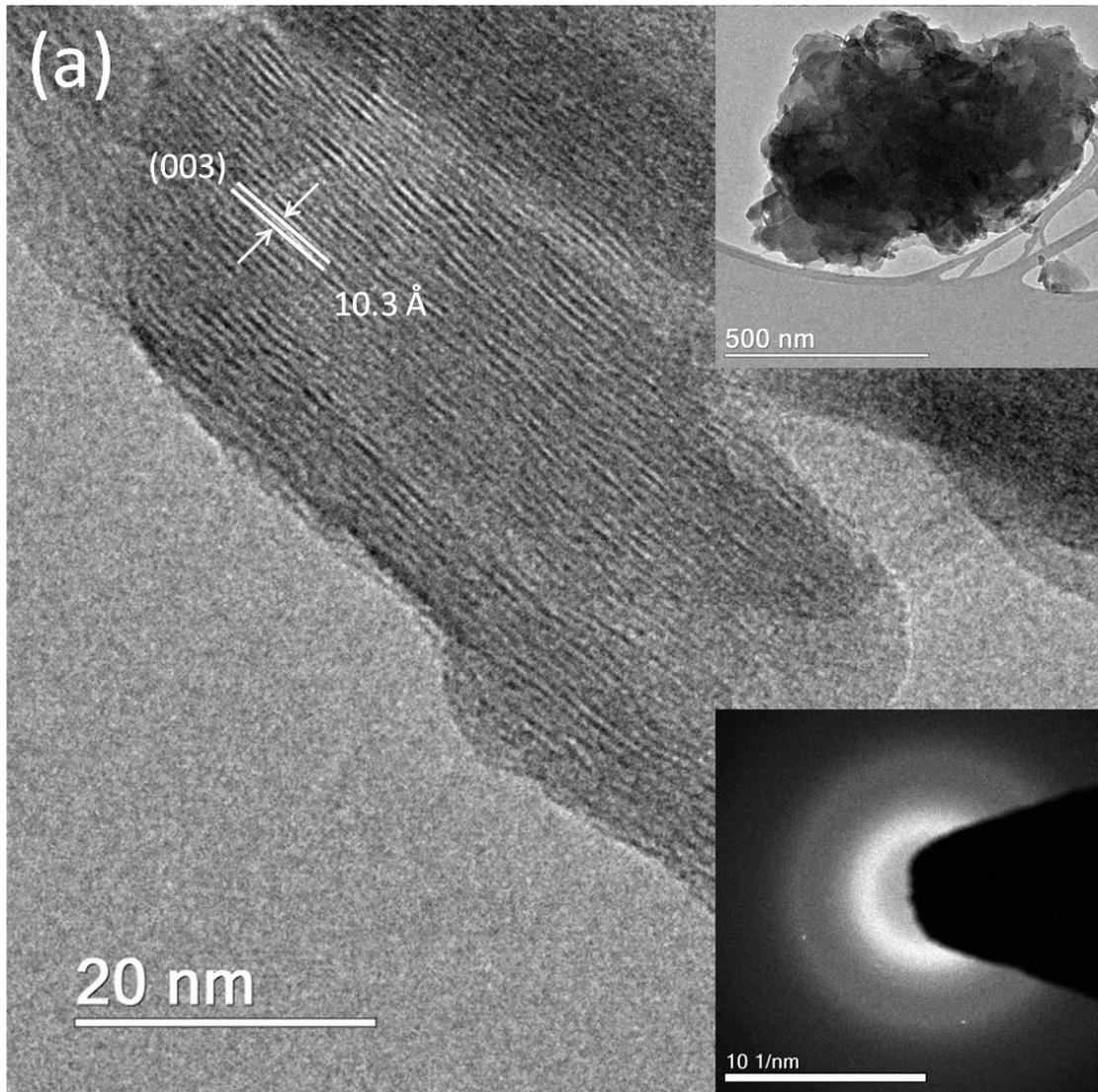
O espaço interplanar  $d_{(003)}$  representa duas camadas lamelares e uma camada interlamelar, provida de ânions hidratados. Por outro lado, a distância  $d_{(006)}$  refere-se à camada lamelar composta por cátions divalentes, cátions trivalentes, e oxigênio. Os valores encontrados para o Mg-Al-HDL-NP nesse trabalho são bem próximos dos reportados por Bocclair *et al.* (1999) e Taylor *et al.* (1970). Esses autores encontraram os valores 11.09 (Bocclair *et al.*, 1999) e 11.0 (Taylor *et al.*, 1970) para  $d_{(003)}$ ; e 5.57 (Bocclair *et al.*, 1999), 5.47 (Taylor *et al.*, 1970) para  $d_{(006)}$ . Os valores de espaço basal (d) foram calculados através da equação de Bragg usando a média  $1/3(d_{(003)} + d_{(006)} + d_{(009)})$ . Os valores de espaço basal estão apresentados na Tabela 17 e estão consistentes com o tamanho do ânion nitroprussiato, indicando a intercalação do complexo ((Bocclair *et al.*, 1999 e da Silva *et al.*, 2003). É importante observar que os valores do espaço basal permanecem praticamente constantes após a remoção do As (V), sugerindo que o arsênio não entra na estrutura do HDL. Esse resultado indica uma remoção por meio da superfície (interação eletrostática). A média do tamanho do cristalito foi determinada pelo método de Scherrer, considerando a média do tamanho entre os dois primeiros e melhor

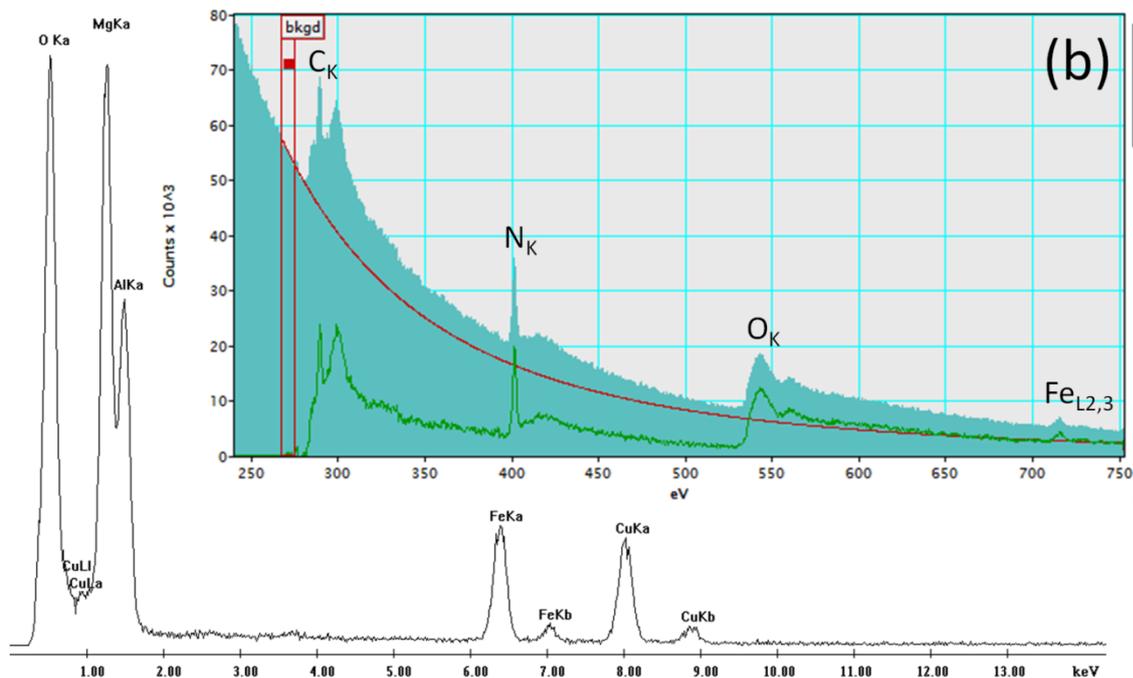
definidos picos, sendo eles (003) e (006) (Pérez-Ramírez *et al.*, 2001). Esses valores são apresentados na Tabela 17, que também mostra os resultados para o Mg-Al-HDL convencional para efeito de comparação. O tamanho de partícula calculado para o Mg-Al-HDL-NP (8 nm) foi menor que o tamanho de partícula para o HDL convencional (23 nm). Tamanhos de partículas menores implicam em picos mais largos, que por sua vez se relacionam com materiais menos cristalinos. Assim, esses valores estão de acordo com os resultados de DRX.

#### **3.4.1.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)**

As características morfológicas, químicas e estruturais das amostras de HDL-NP foram examinadas por MET. A Figura 20 apresenta imagens MET, padrão SAED e espectros EDS / EELS obtidos para os materiais HDL-NP. A morfologia das amostras mostra plaquetas nanométricas formadas por partículas menores aglomeradas (Figura 20a, detalhe: canto superior direito). Imagem TEM de alta resolução (Figura 20) mostra espaçamentos interplanares dominantes da ordem de 10,3 Å, que podem estar relacionados aos (003) planos do grupo espacial romboédrico ( $R\bar{3}m$ ), de acordo com os dados de DRX (Tabela 17). O caráter policristalino dos materiais sintetizados foi verificado pelo padrão SAED (Figura 20a, detalhe: canto inferior direito), onde apenas anéis difusos podem ser visualizados. A Figura 20b apresenta os dados de EDS / EELS para as amostras de HDL-NP, revelando tanto os picos de elétrons de valência (baixa perda) quanto as bordas de ionização de sua estrutura fina. Foi possível observar e atribuir muitas características espectrais, correspondentes a diferentes processos de excitação, enfatizando a alta pureza das amostras. O espectro EDS evidenciou a presença de Mg, Al, O e Fe (as linhas de Cu são devidas às grades TEM), enquanto o espectro

EELS detectou a presença de íons C, N, O e Fe, conforme esperado para amostras quimicamente puras.

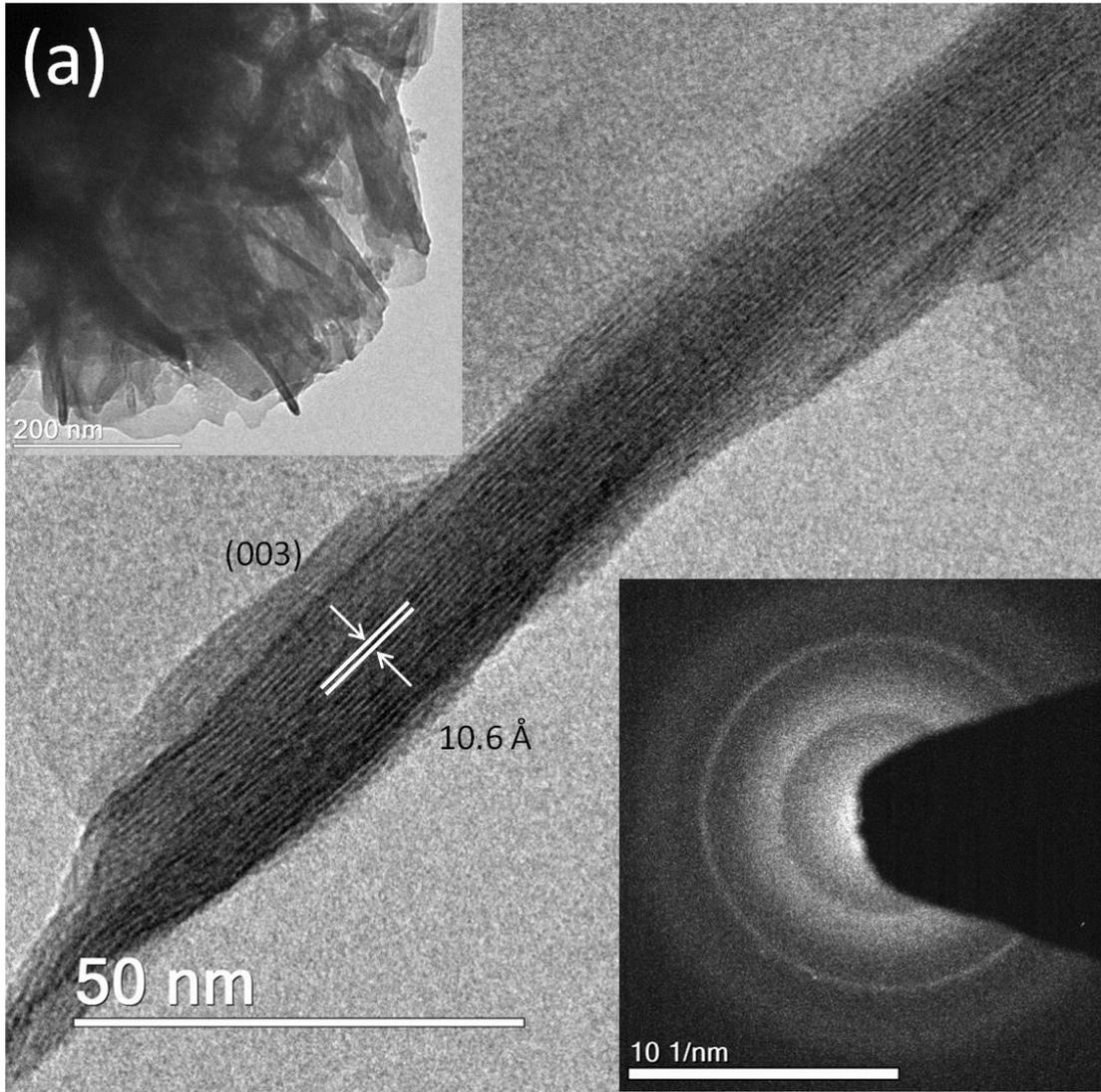


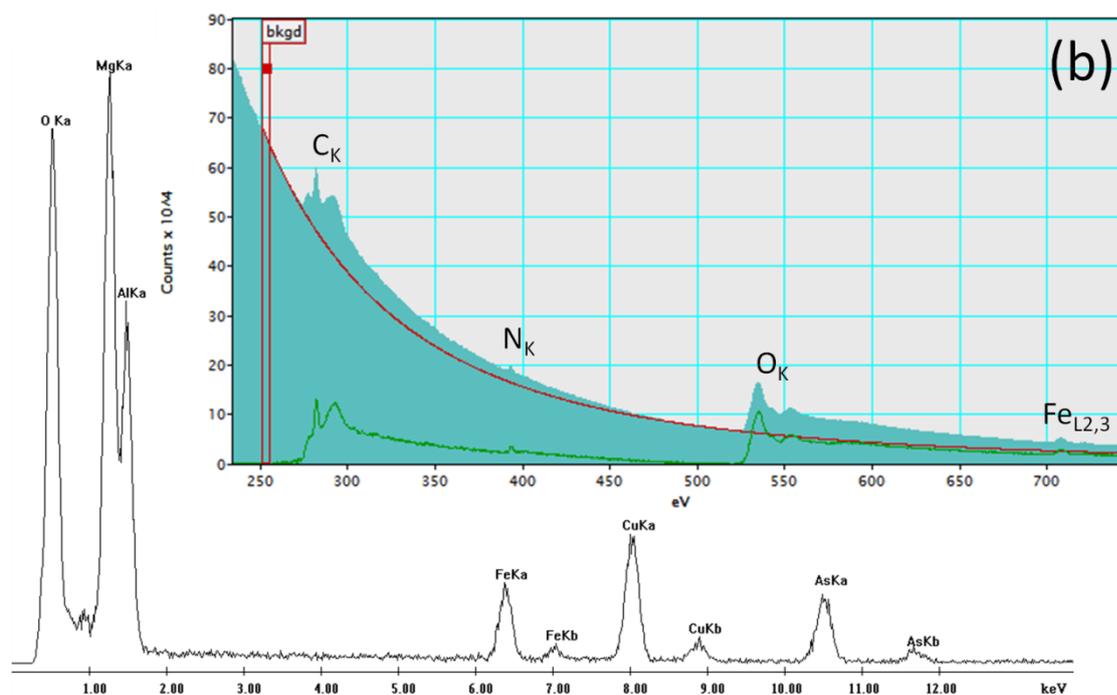


**Figura 20.** a) Imagem MET de alta resolução para os materiais HDL-NP com espaçamentos interplanares de  $10,3 \text{ \AA}$ , que estão relacionados aos (003) planos do grupo espacial romboédrico ( $R\bar{3}m$ ). Inserções: imagem MET de baixa ampliação (canto superior direito) e padrão SAED (canto inferior direito) evidenciando o caráter policristalino da amostra; b) Espectros EDS e EELS com as energias eletrônicas dos íons presentes na estrutura: os sinais de Mg, Al e Fe são mostrados no espectro EDS, enquanto os sinais C, N, O e Fe são mostrados no espectro EELS.

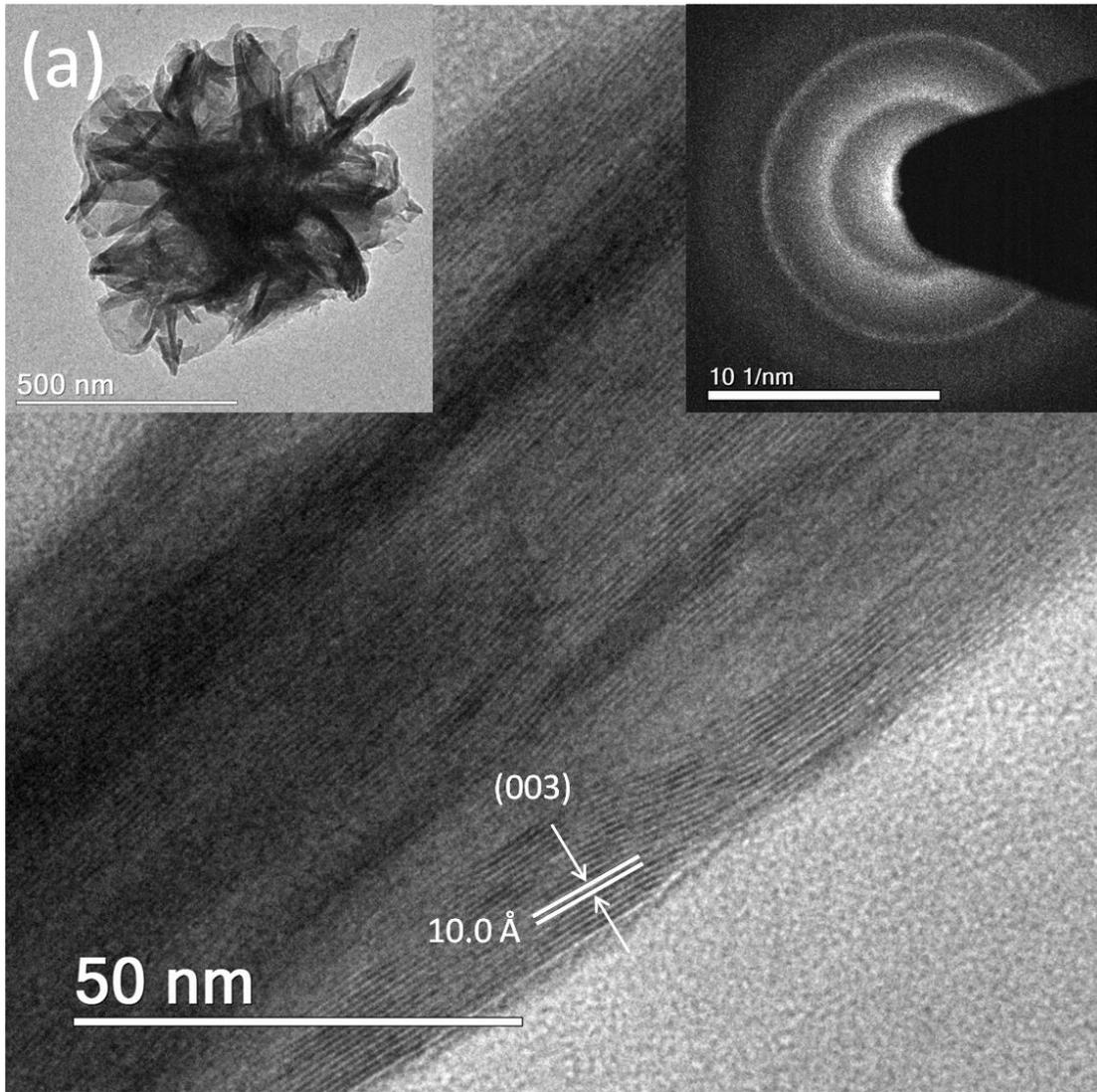
As amostras de HDL-NP saturadas com As (V) também foram investigadas por MET e os resultados são exibidos nas Figuras 21 e 22. Morfologias e características químicas / estruturais dos materiais de HDL-NP saturados em  $\text{pH} = 2,00$  e  $\text{pH} = 12,00$  foram examinadas. A Figura 20 apresenta imagens MET / SAED (Figura 21a), e espectros EDS / EELS (Figura 21b) obtidos para os materiais HDL-NP saturados em  $\text{pH} = 2,00$ . A morfologia das amostras também mostra plaquetas de tamanho nanométrico (Figura 21a, inserção: canto superior esquerdo), enquanto a imagem MET de alta resolução (Figura 21) mostra espaçamentos interplanares bem definidos da ordem de  $10,6 \text{ \AA}$ , que estão relacionados com (003) planos, de

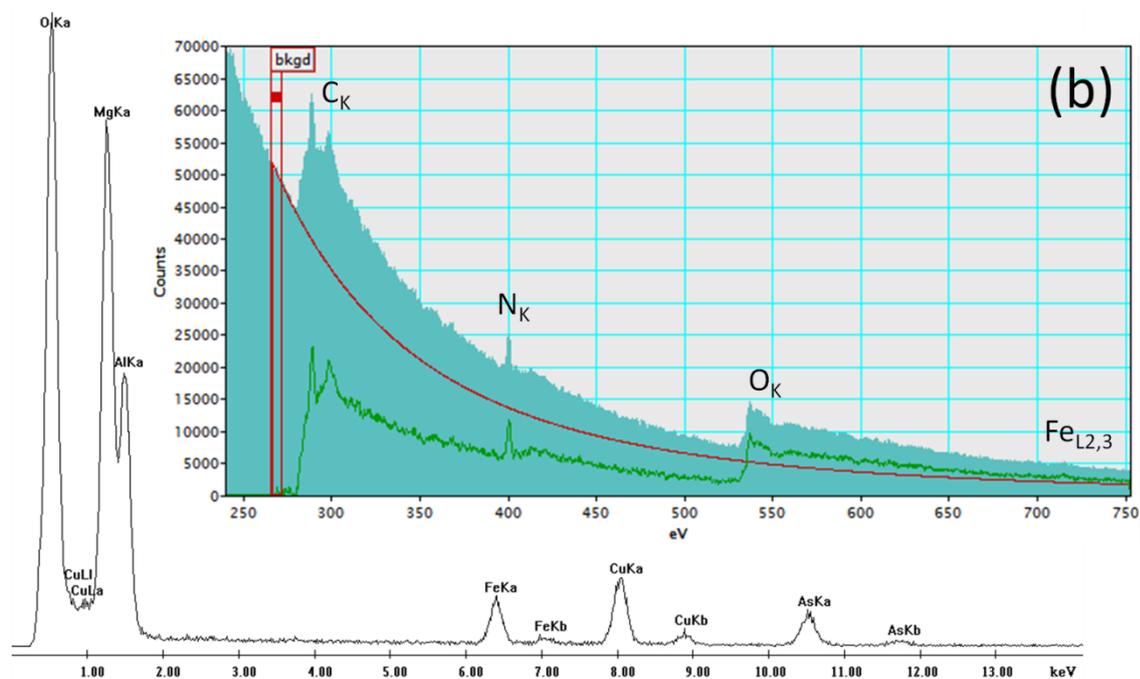
acordo com os resultados do DRX (Tabela 17). O caráter policristalino desses materiais HDL-NP (pH = 2,00) pôde ser verificado (padrão SAED, Figura 21a, inserção: canto inferior direito), onde anéis difusos estão presentes. A Figura 21b apresenta os dados EDS / EELS com muitas características espectrais correspondentes a diferentes processos de excitação. O espectro de EDS mostrou a presença de íons As (V), conforme esperado para as amostras tratadas em pH = 2,00. A Figura 22 mostra os resultados da caracterização de MET para as amostras saturadas em pH = 12,00. Novamente, plaquetas policristalinas de tamanho nanométrico puderam ser observadas (ver inserção, imagens superiores), com espaçamento interplanar de cerca de 10,0 Å, o que está de acordo com os dados de XRD (Tabela 17). Os íons As (V) foram facilmente detectados nessas amostras de HDL-NP por EDS (Figura 22b), como esperado para esses materiais saturados em pH = 12,00.





**Figura 21.** a) Imagem MET de alta resolução para os materiais HDL-NP saturados com As (V) em pH = 2,00, exibindo espaçamentos interplanares de 10,6 Å, que estão relacionados aos (003) planos do grupo espacial romboédrico ( $R\bar{3}m$ ). Inserções: imagem MET de baixa ampliação (canto superior esquerdo) e padrão SAED (canto inferior direito) para a amostra de HDL-NP policristalina; b) Espectros EDS e EELS com as energias eletrônicas dos íons presentes na estrutura. Observe os sinais de íons As (Ka e Kb) observados no espectro EDS.

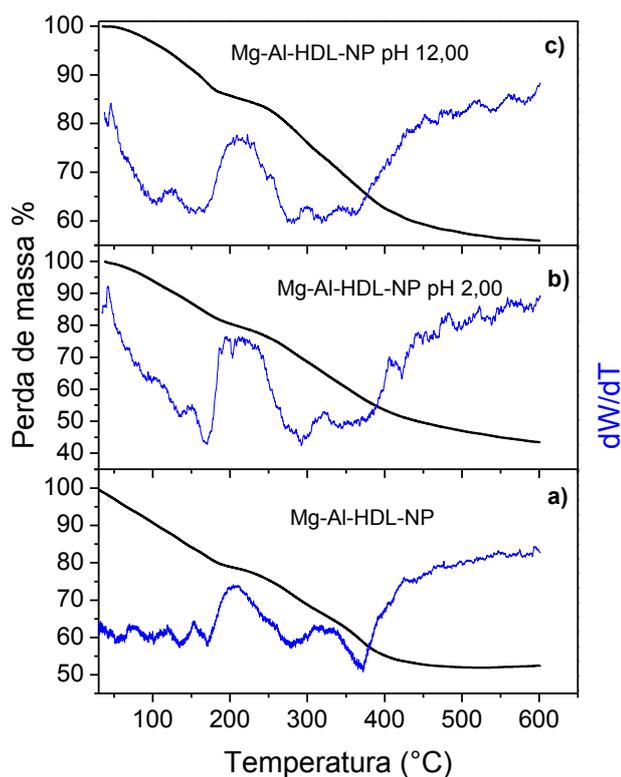




**Figura 22.** a) Imagem MET de alta resolução para os materiais HDL-NP saturados com As (V) em pH = 12,00, exibindo espaçamentos interplanares de 10,0 Å, que estão relacionados aos planos (003). Inserções: imagem MET de baixa ampliação (canto superior esquerdo) e padrão SAED (canto superior direito) mostrando a natureza policristalina da amostra de HDL-NP; b) Espectros EDS e EELS com as energias eletrônicas dos íons presentes na estrutura. Além disso, observe os sinais de íons As (Ka e Kb) observados no espectro EDS.

### 3.4.1.3 Análise termogravimétrica

As curvas de análise termogravimétrica e suas derivadas definem as etapas de decomposição do material e são mostradas na Figura 23.



**Figura 23.** Curvas termogravimétricas TG (linhas pretas) e suas derivadas DTG (linhas azuis) para o HDL intercalado com nitroprussiato (a), e para o material após a remoção de As (V) em meio ácido (b), e meio básico (c)

Na Figura 23a pode-se observar o resultado para o composto Mg-Al-HDL-NP e nas Figuras 23b e 23c o resultado para o material após o processo de adsorção de As (V) em meio ácido (pH 2,00) e meio básico (pH 12,00), respectivamente. Em geral, o HDL decomposto termicamente em uma sequência de três etapas de picos endotérmicos (Cosano *et al.*, 2016, Aramendía *et al.*, 1999, Vieira *et al.*, 2009, Teixeira *et al.*, 2018).

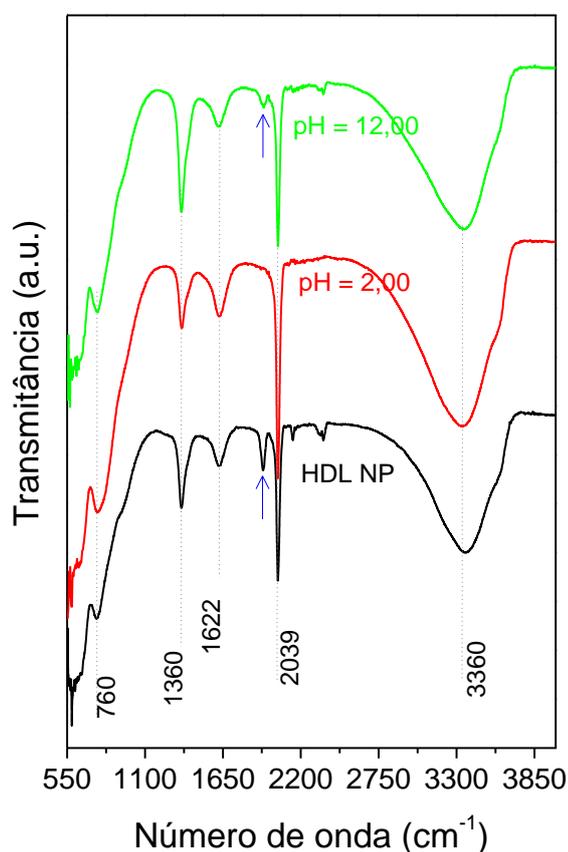
Os materiais exibiram curvas de decomposição distintas antes e após o processo de adsorção do As (V). Para o material Mg-Al-HDL-NP, observam-se três etapas de decomposição térmica. A primeira, da temperatura ambiente até 171 °C, corresponde à liberação de moléculas

de água adsorvidas e interlamelares (Vieira *et al.*, 2009 e Teixeira *et al.*, 2018). A perda de massa nessa região foi de 20,5 %. A segunda etapa de decomposição refere-se à perda de íons hidroxila (Vieira *et al.*, 2009 e Teixeira *et al.*, 2018) e ocorreu em torno de 279 °C com perda de massa de 11,9 %. A última etapa está relacionada com a decomposição dos ânions intercalados (Cosano *et al.*, 2016, Aramendía *et al.*, 1999, Vieira *et al.*, 2009, Teixeira *et al.*, 2018) e ocorreu em torno de 371 °C com perda de massa de 16,7 %.

Para o HDL utilizado no processo de remoção de arsênio, apenas duas etapas de decomposição térmica foram observadas, como mostra a Figura 23b e 23c. Para o material em meio ácido, a primeira decomposição ocorreu em torno de 168 °C com perda de massa de 20,9% e a segunda decomposição ocorreu a 292 °C com perda de massa de 34,4 %. Para o material em meio básico, a primeira decomposição foi observada na região de 166 °C e a segunda em 283 °C com perda de massa de 14,3 e 29,1 %, respectivamente. Nesses casos, o primeiro processo de decomposição está relacionado à moléculas de água interlamelares e o segundo processo de decomposição à perda de íons carbonatos da região interlamelar e íons hidroxila da lamela da brucita como discutido anteriormente. Assim, o material tratado em meio ácido exibiu uma perda de massa maior (55,3 %) se comparado ao material em meio básico (43,4 %). Os compostos que apresentam uma maior perda de massa global indicam uma maior quantidade de ânions presentes nas camadas interlamelares. Esses dados confirmam o resultado de DRX que mostraram um maior espaçamento basal  $d_{003}$  para o material em pH 2,00. Esse resultado sugere que o material em meio ácido deve apresentar uma maior quantidade de arsênio removido. Além disso, para todos os materiais, foi observada uma diferença regular entre as temperaturas de transição, o que indica estabilidade dos HDLs, sem colapso sequencial das unidades que compõem a estrutura lamelar e interlamelar (Vieira *et al.*, 2009).

#### **3.4.1.4. Espectroscopia na região do Infravermelho**

Além do DRX, a espectroscopia de infravermelho permitiu evidenciar a inserção do ânion nitroprussiato na estrutura do HDL. O espectro FTIR para o HDL intercalado com nitroprussiato e para esse material após a adsorção de arsênio são mostrados na Figura 24.



**Figura 24.** Espectro de infravermelho (FTIR) do HDL intercalado com nitroprussiato (linha preta) e do material após a adsorção de arsênio em meio ácido (linha vermelha) e meio básico (linha verde). A posição das bandas principais foi identificada na figura

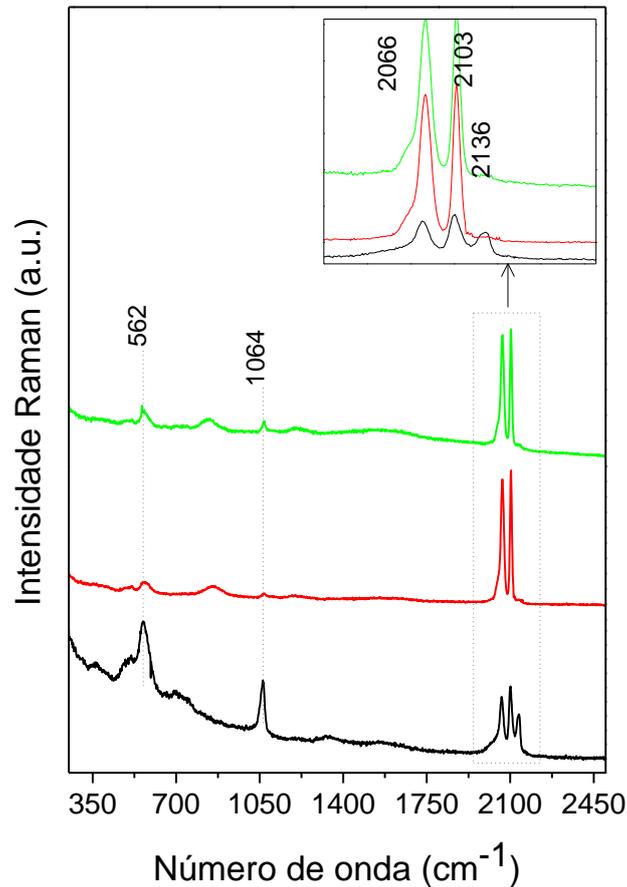
De acordo com a literatura, a inserção de ânions ou complexos no HDL contendo cianeto pode ser facilmente demonstrada pelo aparecimento da vibração  $\nu(\text{CN})$  na região 2200-2000  $\text{cm}^{-1}$  do espectro de infravermelho do material (Boclair *et al.*, 1999).

A banda larga em torno de  $3360\text{ cm}^{-1}$  está relacionada às vibrações do estiramento dos grupos OH do HDL (Boclair *et al.*, 1999 e da Silva *et al.*, 2003). A banda em  $2039\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao estiramento do grupo CN enquanto a banda em  $1622\text{ cm}^{-1}$  está relacionada ao estiramento dos grupos NO e OH (Boclair *et al.*, 1999 e da Silva *et al.*, 2003). De acordo com a literatura, a presença de uma banda forte em  $2039\text{ cm}^{-1}$  em materiais intercalados, está relacionada à substituição do ligante NO por moléculas de água formando  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{H}_2\text{O}]^{3-}$  (da Silva *et al.*, 2003). Além disso, as bandas em torno de  $1360\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas à presença do grupo carbonato, de acordo com da Silva *et al.* (2003). A banda fraca observada em  $760\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao estiramento Fe–N e ao dobramento Fe–N–O (Ghalsasi *et al.*, 2017).

É importante observar a presença das bandas em  $1932\text{ cm}^{-1}$  somente no material intercalado (HDL-NP) e no material após a remoção de arsênio em meio básico, isto é, em pH 12,00. Essa banda está relacionada ao estiramento do grupo NO, e esse resultado sugere que em meio ácido é favorecida a liberação do óxido nítrico do complexo durante a intercalação (Boclair *et al.*, 1999 e da Silva *et al.*, 2003). Como já se sabe, o nitroprussiato se decompõe nos grupos ferrocianeto e nitrosil após a inserção no HDL (Boclair *et al.*, 1999). Assim, a presença do  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{H}_2\text{O}]^{3-}$  é predominante no domínio interlamelar do HDL-NP em pH 2,00. Por outro lado, para o HDL-NP após a adsorção de As (V) em pH 12,00, é observada a presença de bandas relacionadas ao estiramento NO, o que sugere a coexistência de  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$  e  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{H}_2\text{O}]^{3-}$  no domínio interlamelar do Mg-Al-HDL-NP (da Silva *et al.*, 2003). Esse resultado está relacionado com a remoção de arsênio, como será discutido. É importante notar que a presença majoritária dos ânions  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{H}_2\text{O}]^{3-}$  sugere uma melhor habilidade para remover As (V) se comparado à presença do  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$ , já que a interação eletrostática será favorecida.

### 3.4.1.5. Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman para todos os materiais estudados (Figura 25) é consistente com a sua estrutura cristalina e composição química.



**Figura 25.** Espectro Raman do HDL intercalado com nitroprussiato (linha preta), e do material após adsorção de As (V) em meio ácido (linha vermelha) e meio básico (linha verde). A inserção mostra os modos relacionados às vibrações equatoriais e axiais do grupo C–N.

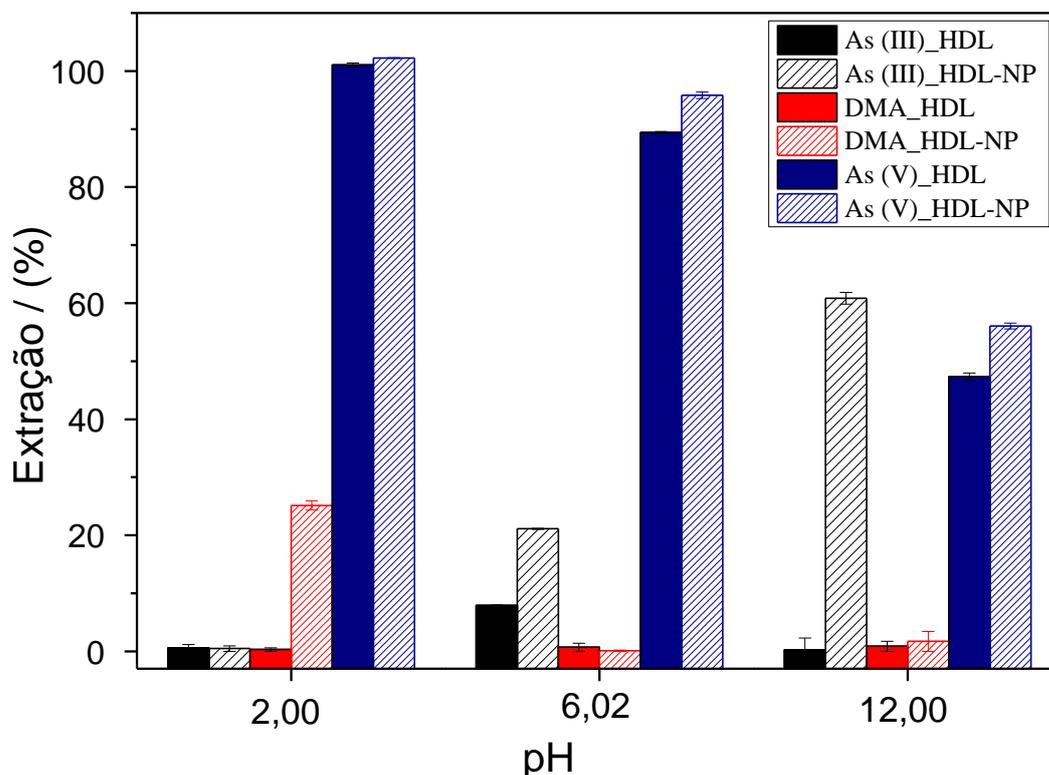
A estrutura da hidrotalcita é romboédrica ( $R\bar{3}m$ ,  $Z = 3$ ) e o espectro Raman para diferentes composições foi descrito em detalhes por Bellotto *et al.* (1996) e Richardson *et al.* (2007) em seus trabalhos. No entanto, de acordo com Vieira *et al.* (2009) o número de modos observados no espectro para materiais do tipo HDL é menor que os sítios de Wyckoff de todos

os átomos da célula unitária. Isso se justifica pelo fato desses materiais poderem exibir uma estrutura muito desordenada, o que pode violar as regras de seleção e ativar os modos proibidos da espectroscopia Raman (o mesmo é válido para a espectroscopia de infravermelho) (Vieira *et al.*, 2009). Dessa forma, a análise desse trabalho é baseada nos principais modos Raman observados em HDLs e ânion nitroprussiato. É importante notar que o espectro Raman para o HDL intercalado com nitroprussiato está sendo mostrado pela primeira vez.

A Figura 25 mostra o espectro Raman para o HDL intercalado com nitroprussiato e para esse material após a adsorção de As (V) em pH 2,00 e pH 12,00, nas regiões de 250 a 2500  $\text{cm}^{-1}$ , a temperatura ambiente. A presença da banda em 562  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à vibração Al—OH (Vieira *et al.*, 2009, Teixeira *et al.*, 2018 e P.-Ramírez *et al.*, 2001). Além disso, a banda em 1064  $\text{cm}^{-1}$  está relacionada com vibração de alongamento simétrico do  $\text{CO}_3^{2-}$  (Teixeira *et al.*, 2018 e P.-Ramírez *et al.*, 2001). Essas duas bandas são características das estruturas dos HDLs e estão de acordo com a literatura (Vieira *et al.*, 2009, Teixeira *et al.*, 2018, P.-Ramírez *et al.*, 2001 e Santo *et al.*, 2018). Na faixa de frequência de 2000 a 2200  $\text{cm}^{-1}$  pode-se observar os modos relacionados à presença dos ânions nitroprussiato. De acordo com os cálculos teóricos para o ânion  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$ , é esperado ver modos fortes em torno de 2066, 2103 e 2136  $\text{cm}^{-1}$ , relacionadas à vibrações do tipo equatorial e axial do grupo C—N. Essas bandas estão destacadas no interior da figura e pode-se observar que a segunda banda relacionada à vibração equatorial do grupo C—N é a mais intensa. Além disso, a terceira banda, referente à vibração axial do grupo C—N, diminui a sua intensidade nas amostras após a adsorção de arsênio. A baixa frequência nos modos em 364  $\text{cm}^{-1}$  e 496  $\text{cm}^{-1}$ , relacionadas à vibração equatorial do grupo Fe—C—N e vibração axial do grupo Fe—C, respectivamente, também foram observadas no espectro Raman.

### 3.4.2. Avaliação do potencial de remoção do As

A Figura 26 apresenta as porcentagem de extração das espécies As (III), As (V) e DMA em função do adsorvente utilizado, HDL convencional ou HDL incorporado com nitroprussiato (HDL-NP), nos diferentes valores de pH avaliados.



**Figura 26.** Comparação da porcentagem de extração do As (III), As (V) e DMA utilizando HDL conv e HDL-NP em função do pH (temperatura 25 °C, velocidade de agitação 150 rpm, tempo de contato 24 horas, concentração de As 10 mg L<sup>-1</sup> e concentração do adsorvente 1,33 g L<sup>-1</sup>).

Nas condições investigadas, o HDL convencional não adsorve a espécie DMA, porém apresenta adsorção para As (III) em pH 6,02 (7,93% de remoção) e para As (V) nos 3 valores de pH estudados (101,07% de remoção em pH 2,00; 89,40% de remoção em pH 6,02 e 47,31% de remoção em pH 12,00). Por outro lado, o HDL-NP adsorve a espécie DMA em pH 2,00 (25,10 % de remoção), apresenta adsorção para As (III) em pH 6,02 (21,11% de remoção) e em

pH 12,00 (60,83% de remoção) e adsorve As (V) nos 3 pHs estudados (102,23% de remoção em pH 2,00; 95,84% de remoção em pH 6,02 e 56,07% de remoção em pH 12,00).

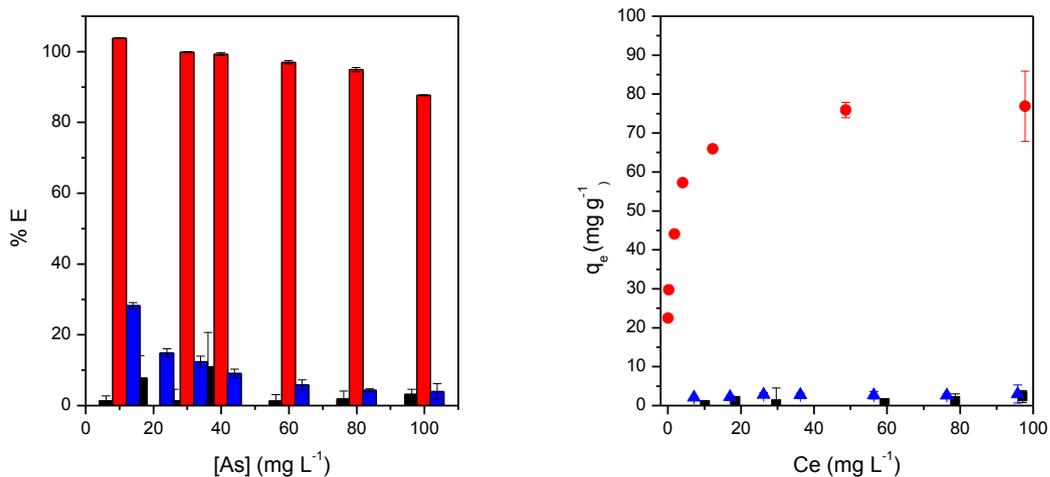
A partir destes resultados pode-se verificar que utilizando o HDL convencional é possível adsorver seletivamente o As (V) em pH 2,00 e 12,00. No entanto, sabe-se que a forma trivalente (As (III)) é muito mais tóxica que as formas pentavalente (As (V)) e orgânica (DMA), sendo interessante especiar a espécie trivalente de As a partir da espécie orgânica. Nesse sentido, o HDL-NP apresenta resultados interessantes que podem possibilitar uma especiação da espécie trivalente, uma vez que, em pH 2,00, ele é capaz de adsorver as espécies DMA e As (V), mas não a espécie As(III). Além disso, em pH 6,02 e 12,00, apenas as espécies inorgânicas As (III) e As (V) são adsorvidas, sugerindo uma possibilidade de especiação da espécie orgânica das demais. Como o As é mais comumente encontrado como oxiânion em compostos inorgânicos nas formas As(III) (arsenito,  $\text{AsO}_3^{-3}$ ) e As(V) (arsenato,  $\text{AsO}_4^{-3}$ ) e sendo as formas inorgânicas mais tóxicas, a adsorção seletiva dessas espécies é algo estratégico, ressaltando as características de adsorção do HDL-NP frente às diferentes espécies de As.

Nesse contexto, observam-se algumas vantagens na incorporação do nitroprussiato ao HDL para adsorção das espécies de arsênio: a possibilidade de extração do DMA, o aumento da porcentagem de extração das espécies inorgânicas (As (III) e As (V)) em todos os valores de pH estudados, o que é muito importante por serem as mais tóxicas para o organismo humano e a possibilidade de especiar as espécies de As em condições específicas. Diante desses resultados foram realizados estudos de adsorção mais completos das espécies As (III), As(V) e DMA sobre o HDL incorporado com nitroprussiato.

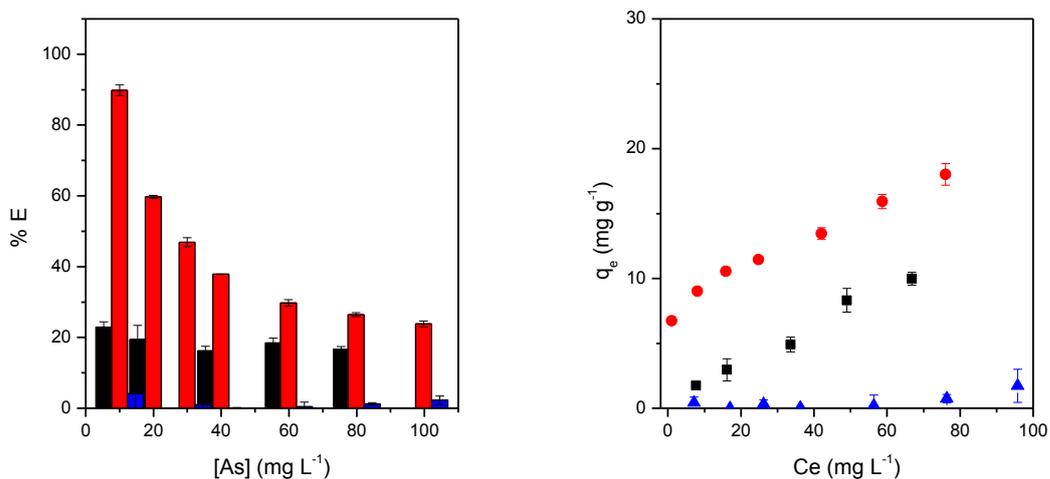
### **3.4.3. Isotermas de adsorção**

O estudo das isotermas de adsorção nos permite avaliar como o aumento da concentração inicial do analito na fase líquida influencia na adsorção, quando são mantidos constantes a massa de adsorvente e a temperatura. A Figura 27 apresenta as isotermas de adsorção das espécies As (III), As (V) e DMA em HDL-NP e as respectivas porcentagens de extração obtidas nos diferentes valores de pH avaliados.

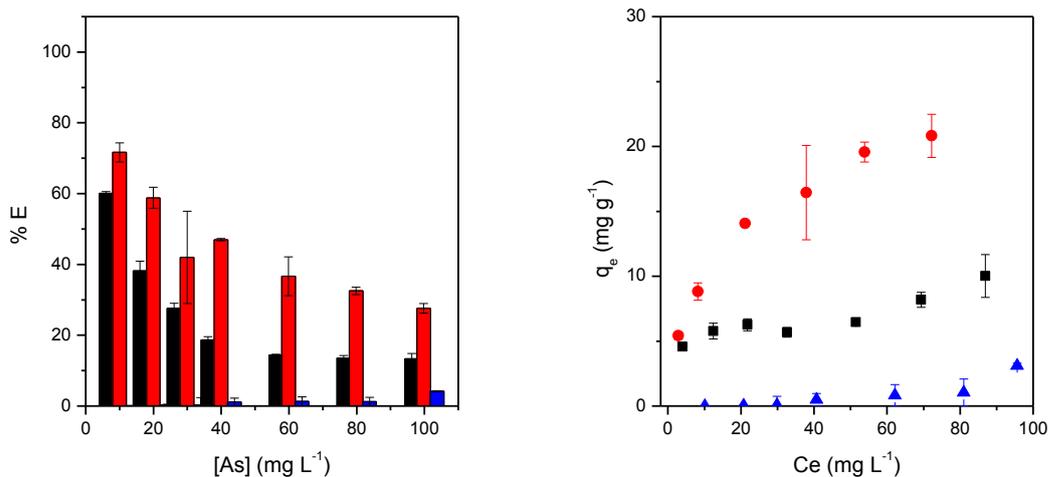
a



b



c



**Figura 27.** Porcentagens de extração de (■) As (III), (●) As (V) e (▲) DMA em função da concentração inicial de As (à esquerda) e isothermas de adsorção de (■) As (III), (●) As (V) e (▲) DMA (à direita) em HDL-NP (1,33 mg L<sup>-1</sup>). T = 25 °C, 150 rpm, (a) pH 2,00, (b) pH 6,02 e (c) pH 12,00

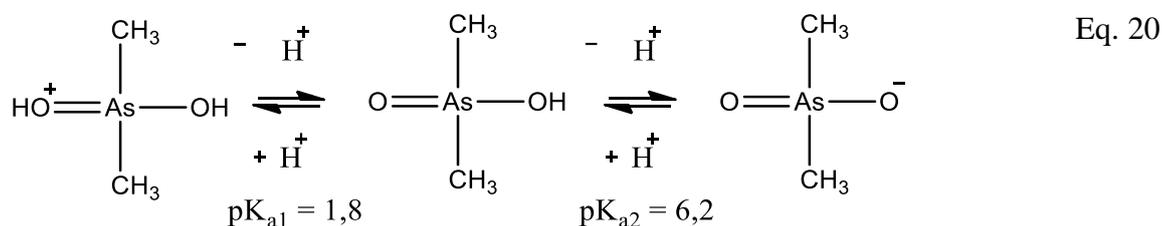
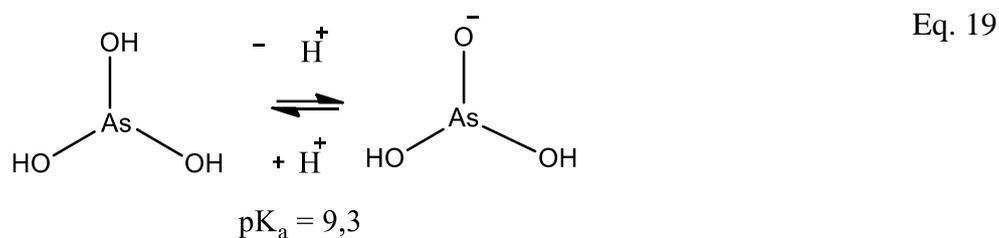
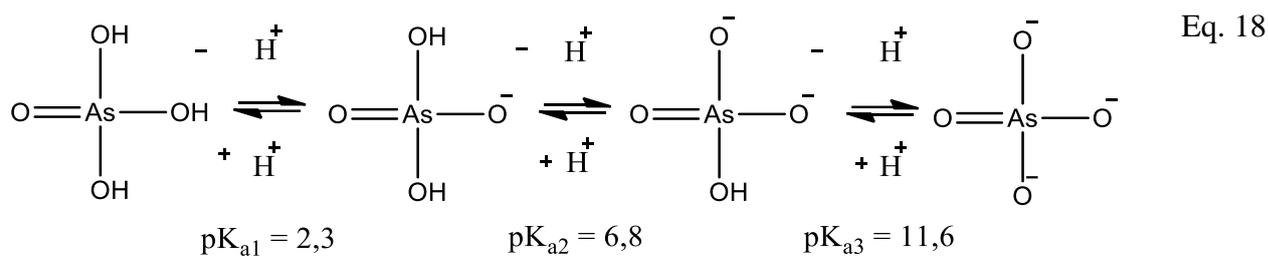
De forma geral, os perfis das isothermas de adsorção foram fortemente dependentes da espécie de arsênio adsorvida e do pH do meio. Os dados de isoterma confirmam que o HDL-NP possui grande potencial para extração de As (V), principalmente em pH 2,00 (Figura 27a). Nessa condição, praticamente todo o As (V) é removido da solução quando sua concentração varia até 40 mg L<sup>-1</sup>. Além disso, na faixa de concentração inicial de As avaliada, a porcentagem de extração do As (V) diminuiu pouco com o aumento da concentração do analito na solução (de 103,8 % em 10 mg L<sup>-1</sup> para 87,7% em 100 mg L<sup>-1</sup>). A partir da isoterma de adsorção, observa-se que a quantidade de As (V) adsorvida (q<sub>e</sub>) aumentou rapidamente com o aumento da concentração de equilíbrio desta espécie em solução até atingir um platô em torno de 76,9 mg g<sup>-1</sup>, o qual sugeriu a saturação da superfície do adsorvente. Nesse pH o HDL-NP não adsorveu a espécie de As (III) e adsorveu pouco a espécie DMA (uma porcentagem de remoção de 28,2 % foi verificada para uma concentração inicial de As igual a 10 mg L<sup>-1</sup>).

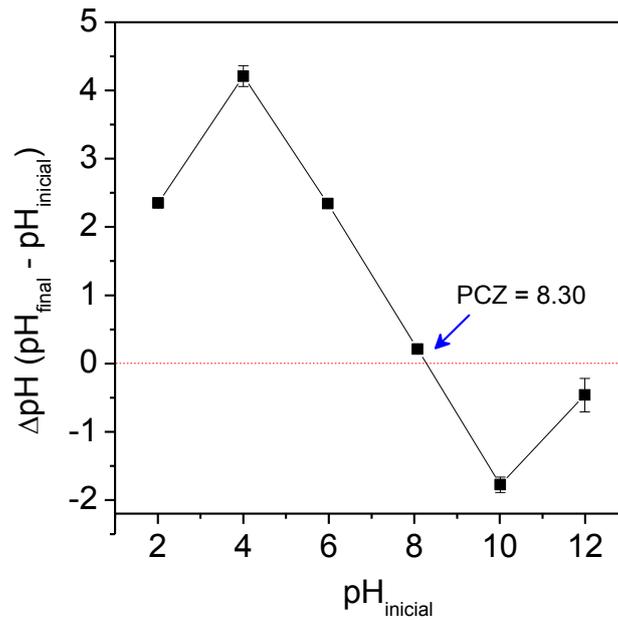
Em pH 6,02 (Figura 27b), o HDL-NP adsorve pouco o DMA, para toda a faixa de concentração estudada (porcentagens de remoção menores do que 5,0 %) e a quantidade adsorvida de As (III) é baixa (porcentagens de remoção de no máximo 20,0 %, com um  $q_e$  máximo de  $10,0 \text{ mg g}^{-1}$ ). Além disso, a mudança do pH de 2,00 para 6,02 causou uma diminuição expressiva da quantidade adsorvida da espécie As (V), que atingiu um valor máximo de quantidade adsorvida igual a  $18,0 \text{ mg g}^{-1}$ , promovendo uma mudança no perfil da isoterma de adsorção.

Por fim, em valor de pH igual a 12,0 (Figura 27c) o comportamento de adsorção das três espécies de As estudadas foram similares àquele verificado em pH 6,02. Observa-se que o HDL-NP não adsorve o DMA na maior faixa de concentração estudada, removendo apenas cerca de 4,0 % da espécie em concentração elevada do adsorvato. As espécies de As (V) e As (III), por sua vez alcançam valores máximos de  $q_e$  iguais a  $20,8 \text{ mg g}^{-1}$  e  $10,0 \text{ mg g}^{-1}$ , respectivamente.

Nossos resultados para adsorção de As (V) são similares àqueles de Guo et al., (2012) que verificaram que o aumento do pH promoveu uma diminuição da quantidade de As (V) adsorvida em HDL do tipo CuMgFeLa-HDL, sendo este resultado atribuído ao aumento da repulsão eletrostática entre a espécie de As (V) e a superfície do HDL. Resultados e explicações similares foram propostas por Hongtao et al., (2018) ao avaliarem a adsorção de As (V) em HDL do tipo MgAlFe-HDL intercalados com ânion cloreto ou nitrato. Entretanto, cabe destacar que os maiores valores de  $q_e$  para As (V) são verificados em pH 2,00, quando uma fração das moléculas da espécie As (V) encontra-se em sua forma neutra (Equação 18). Ao mesmo tempo, verificamos um aumento na adsorção de As (III) quando o pH aumenta de 2,00, onde a espécie encontra-se neutra, para 6,02 ou 12,00, onde a espécie encontra-se neutra ou carregada negativamente, respectivamente (Equação 19). Por fim, não foi verificado nenhuma adsorção da espécie DMA em pH 6,00, a qual encontra-se carregada parcialmente negativa nesta

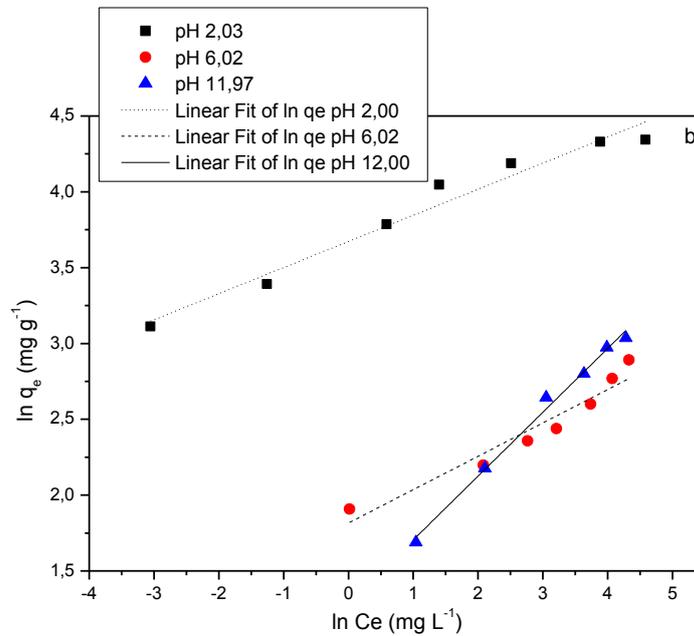
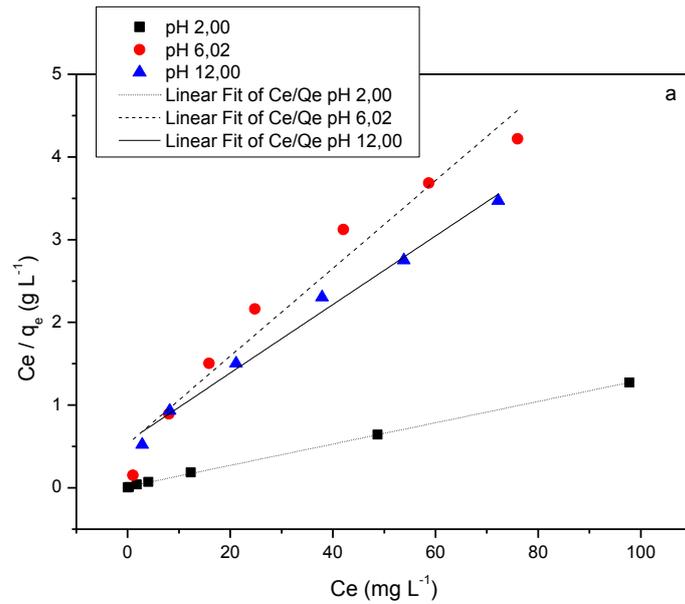
condição (Equação 20) enquanto o HDL encontra-se carregado positivamente ( $\text{pH}_{\text{pzc}}$  igual a 8,30 – Figura 28). Dessa forma, a adsorção das espécies de arsênio sobre o HDL-NP não deve ser apenas de natureza eletrostática, podendo envolver interações específicas entre estas espécies de arsênio e o nitroprussiato incorporado no HDL.





**Figura 28.** Curva de  $\Delta\text{pH}$  versus  $\text{pH}_{\text{inicial}}$  para determinação do ponto de carga zero (PCZ) do HDL-NP.

Tendo em vista as características de adsorção da espécie de As (V) sobre o HDL-NP, é importante compreender os mecanismos de adsorção desse analito sobre este adsorvente. A fim de ajudar na compreensão de tal mecanismo, os modelos de isoterma de Langmuir e de Freundlich foram ajustados aos dados experimentais de adsorção do As (V) como mostra a Figura 29. Os parâmetros de ajuste dos modelos são apresentados na Tabela 18.



**Figura 29.** Ajuste dos modelos de Langmuir (a) e Freundlich (b) para As (V) em pH 2,00; pH 6,02 e pH 12,00

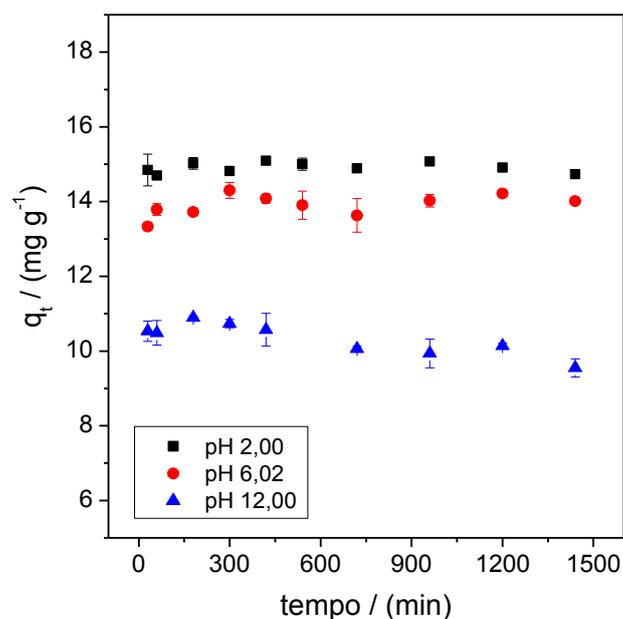
**Tabela 18.** Valores encontrados para o ajuste dos modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich (25 °C; 0,0200 g de adsorvente)

<b>Modelos de Isoterma</b>	<b>Parâmetros</b>	<b>pH 2,00</b>	<b>pH 6,02</b>	<b>pH 12,00</b>
<b>Langmuir</b>	$q_{\text{máx}}$ (mg g <sup>-1</sup> )	77,63	18,84	24,15
	$K_L$ (L mg <sup>-1</sup> )	0,92	0,10	0,07
	$R^2$	0,9996	0,9501	0,9866
<b>Freundlich</b>	$K_F$	1	6,1476	3,6089
	$n$	5,8082	4,5446	2,3752
	$R^2$	0,9609	0,9215	0,9912

Observou-se que o modelo de Langmuir foi aquele que melhor se ajustou aos dados de adsorção de As (V) sobre HDL-NP em pH 2,00 ( $R^2 = 0,9996$ ), sendo estimado um valor máximo da capacidade de adsorção ( $q_{\text{máx}}$ ) de 77,63 mg g<sup>-1</sup>, o qual foi próximo do valor obtido experimentalmente (76,9 mg g<sup>-1</sup>) e em pH 6,02 ( $R^2 = 0,9501$ ) sugerindo que a adsorção ocorreu em sítios de adsorção similares. Por outro lado, em pH 12,00, o modelo de Freundlich forneceu o melhor ajuste para os dados de adsorção com valor de  $R^2$  igual a 0,9912, indicando que a mudança de pH promoveu uma mudança do mecanismo de adsorção.

#### **3.4.4. Cinética de adsorção**

O estudo de cinética está relacionado com a taxa de remoção do analito em função do tempo. Devido à alta capacidade de remoção do As (V) pelo HDL-NP, o estudo de cinética foi feito apenas para essa espécie. A Figura 30 apresenta como a quantidade de As (V) adsorvida varia com o tempo em pH 2,00, 6,02 e 12,00.



**Figura 30.** Adsorção de As (V) com concentração inicial  $20 \text{ mg L}^{-1}$  em função do tempo em HDL-NP em pH 2,00; 6,02 e 12,00 (temperatura  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , velocidade de agitação 150 rpm, concentração do adsorvente  $1,33 \text{ mg L}^{-1}$ )

O primeiro tempo de coleta e análise do teor de remoção foi 30 minutos. Observando os resultados após este tempo, verifica-se que o valor de  $q_t$  praticamente não se altera, ou seja, a cinética para esse processo é muito favorável.

Guo *et al.*, (2012) em seu trabalho usou Cu/Mg/Fe/La-HDL ( $0,2 \text{ g L}^{-1}$ ) para remover As (V) e atingiu o equilíbrio após 8 horas com um  $q_t$  de  $21 \text{ mg g}^{-1}$ .

Lee *et al.*, (2018) usou Mg-Al-HDL para remover As (V)  $0,2 \text{ g L}^{-1}$ , em pH 7,00 e atingiu o equilíbrio após 360 minutos usando o adsorvente calcinado com um  $q_t$  próximo a  $130 \text{ mg g}^{-1}$  e 180 minutos usando o adsorvente não calcinado com um  $q_t$  próximo a  $20 \text{ mg g}^{-1}$ .

Türk *et al.* (2009), em seu trabalho usou Mg-Fe-CO<sub>3</sub>-HT ( $10 \text{ g L}^{-1}$ ) em 50 mL de solução contendo As (V) em diferentes concentrações e verificou que o tempo de equilíbrio foi

aproximadamente 15 minutos. Para o As (V) na concentração  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  o  $q_t$  foi próximo a  $20 \mu\text{g g}^{-1}$ .

Comparando o resultado obtido com os trabalhos encontrados na literatura, verifica-se que o tempo para remoção do As (V) usando HDL-NP é baixo sendo um ótimo indicativo para aplicação deste material.

### 3.5. Conclusão

O HDL-NP se mostrou seletivo na adsorção das espécies de arsênio, As (III), As (V) e DMA, em função do pH. Em pH ácido (2,00) ele adsorve As (V) e DMA, em pH 6,02 e em pH básico (12,00) o HDL-NP adsorve as espécies inorgânicas As (III) e As (V). O potencial para remoção do As (V) foi maior em pH ácido, 6,02 e básico para toda a faixa de concentração estudada. Foi feito o estudo das isotermas de adsorção para essa espécie e concluiu-se que o mecanismo de adsorção foi diferente em função do pH, a adsorção em pH 2,00 ocorreu em monocamada pois o modelo de Langmuir foi o que melhor se ajustou ( $R^2 = 0,9996$ ) e em pH 6,02 e 12,00 a adsorção ocorreu em multicamada pois o modelo de Freundlich foi o que melhor se ajustou ( $R^2 = 0,9667$  e  $R^2 = 0,9912$ ) respectivamente. Em relação à cinética observa-se que o processo de adsorção é rápido (após 30 minutos não foi verificada alteração no valor de  $q_t$ ) o que reforça a importância de se investir em mais estudos para aplicação deste material.

### 3.6. Referências Bibliográficas

Aramendía, M. A.; Avilés, Y.; Borau, V.; Luque, J. M.; Marinas, J. M.; Ruiz, J. R.; Urbano, F. J. Thermal decomposition of Mg/Al and Mg/Ga layered-double hydroxides: a spectroscopic study. **Journal of Materials Chemistry** 9 (1999) 1603 – 1607.

Asiabi, H.; Yamini, Y.; Shamsayei, M. Highly selective and efficient removal of arsenic(V), chromium(VI) and selenium(VI) oxyanions by layered double hydroxide intercalated with zwitterionic glycine. **Journal of Hazardous Materials** 339 (2017) 239 – 247.

- Bellotto, M.; Rebours, B.; Clause, O.; Lynch, J.; Bazin, D.; Elkaim, E. A Reexamination of Hydrotalcite Crystal Chemistry. **The Journal of Physical Chemistry** 100 (1996) 8527 – 8534.
- Bocclair, J. W.; Braterman, P. S.; Brister, B. D.; Yarberry, F. Layer-Anion Interactions in Magnesium Aluminum Layered Double Hydroxides Intercalated with Cobalticyanide and Nitroprusside. **Chemistry of Materials**. 11 (1999) 2199 – 2204.
- Bukhtiyarova, M. V. A review on effect of synthesis conditions on the formation of layered double hydroxides. **Journal of Solid State Chemistry** 269 (2019) 494 – 506.
- Burakov, A. E.; Galunin, E. V.; Burakova, I. V.; Kucherova, A. E.; Agarwal, S.; Tkachev, A. G.; Gupta, V. K. Adsorption of heavy metals on conventional and nanostructured materials for wastewater treatment purposes: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 148 (2018) 702 – 712.
- Chanpiwat, P.; Sthiannopkao, S.; Cho, K. H.; Kim, K.-W.; San, V.; Suvanthong, B.; Vongthavady, C. Contamination by arsenic and other trace elements of tube-well water along the Mekong River in Lao PDR. **Environmental Pollution**. 159 (2011) 567 – 576.
- Cosano, D.; Esquinas, C.; Sanchidrián, C. J.-; Ruiz, J. R. Use of Raman spectroscopy to assess the efficiency of MgAl mixed oxides in removing cyanide from aqueous solutions. **Applied Surface Science** 364 (2016) 428 – 433.
- Da Silva, L. F.; Tronto, J.; Oliveira, H. P.; Valim, J. B. Intercalation and Electrochemical Studies of Nitroprusside Anion into Zn-Al Layered Double Hydroxide. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**. 46 (2003) 187 – 193.
- Ghalsasi, P. P.; Ghalsasi, P. S.; Muthu, D. V. S. Back-Bonding Signature with High Pressure: Raman Studies on Silver Nitroprusside. **Inorganic Chemistry** 56 (2017) 9669 – 9675.
- Goh, K.; Lima, T.; Dong, Z. Application of layered double hydroxides for removal of oxyanions: A review. **Water Research** 42 (2008) 1343 – 1368.
- Guoa, Y.; Zhua, Z.; Qiub, Y.; Zhao, J. Adsorption of arsenate on Cu/Mg/Fe/La layered double hydroxide from aqueous solutions. **Journal of Hazardous Materials** 239 (2012) 279 – 288.
- Hanh, H. T.; Kim, K.-W.; Bang, S.; Hoa, N. M. Community exposure to arsenic in the Mekong river delta, Southern Vietnam. **Journal of Environmental Monitoring** 13 (2011) 2025 – 2032.
- Islam, S.; Rahman, M. M.; Rahman, M. A.; Naidu, R. Inorganic arsenic in rice and rice-based diets: Health risk assessment. **Food Control** 82 (2017) 196 – 202.
- Lee, S. H.; Tanaka, M.; Takahashi, Y.; Kim, K. W. Enhanced adsorption of arsenate and antimonate by calcined Mg/Al layered double hydroxide: Investigation of comparative adsorption mechanism by surface characterization. **Chemosphere** 211 (2018) 903 – 911.
- Liu, X.; Zhang, L. Removal of phosphate anions using the modified chitosan beads: adsorption kinetic, isotherm and mechanism studies. **Powder Technol.** 277 (2015) 112 – 119.

Liu, L. *et al.* Speciation analysis of arsenic compounds by capillary electrophoresis on-line coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry using a novel interface. **Journal of Chromatography A**. 1304 (2013) 227 – 233.

Mukhopadhyay, R.; Manjaiah, K. M.; Datta, S. C.; Sarkar, B. Comparison of properties and aquatic arsenic removal potentials of organically modified smectite adsorbents. **Journal of Hazardous Materials** 377 (2019) 124 – 131.

Nascimento, R. F.; Lima, A. C. A.; Vidal, C. B.; Melo, D. Q.; Raulino, G. S. C. **Adsorção: Aspectos teóricos e Aplicações Ambientais**. Imprensa Universitária. 256 p. Fortaleza, 2014.

Nasir, A. M.; Goh, P. S.; Abdullah, M. S.; Ng, B. C.; Ismail, A. F. Adsorptive nanocomposite membranes for heavy metal remediation: Recent progresses and challenges. **Chemosphere** 232 (2019) 96 – 112.

Pérez-Ramírez, J.; Mul, G.; Kapteijn, F.; Moulijn, J. A. In situ investigation of the thermal decomposition of Co-Al hydrotalcite in different atmospheres. **Journal of Materials Chemistry** 11 (2001) 821 – 830.

Pérez-Ramírez, J.; Mul, G.; Molijn, J. A. In situ Fourier transform infrared and laser Raman spectroscopic study of the thermal decomposition of Co-Al and Ni-Al hydrotalcites. **Vibrational Spectroscopy** 27 (2001) 75 – 88.

Phan, K.; Phan, S.; Huoy, L.; Suy, B.; Wong, M. H.; Hashim, J. H.; Mohamed Yasin, M. S.; Aljunid, S. M.; Sthiannopkao, S.; Kim, K. W. Assessing mixed trace elements in groundwater and their health risk of residents living in the Mekong River basin of Cambodia. **Environmental Pollution** 182, (2013) 111 – 119.

Richardson, M. C.; Braterman, P. S. Infrared Spectra of Oriented and Nonoriented Layered Double Hydroxides in the Range from 4000 to 250  $\text{cm}^{-1}$ , with Evidence for Regular Short-Range Order in a Synthetic Magnesium-Aluminum LDH with Mg:Al = 2:1 but not with Mg:Al = 3:1. **The Journal of Physical Chemistry C** 111 (2007) 4209 – 4215.

Santo, A. D.; Osiry, H.; Reguera, E.; Alborés, P.; Carbonio, R. E.; Altabef, A. B.; Gil, D. M. New coordination polymers based on 2-methylimidazole and transition metal nitroprusside containing building blocks: synthesis, structure and magnetic properties. **New Journal of Chemistry** 42 (2018) 1347 – 1355.

Shamsipur, M. *et al.* Speciation of As (III) and As (V) in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after solid phase extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic drop. **Talanta**. 130 (2014) 26 – 32.

Taylor, J. C.; Mueller, M. H.; Hitterman, R. L. A Neutron Diffraction Study of Ferroelectric, KFCT,  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{D}_2\text{O}$ , above the Curie Temperature. **Acta Crystallographica A** 26 (1970) 559 – 567.

Teixeira, M. A.; Mageste, A. B.; Dias, A.; Virtuoso, L. S.; Siqueira, K. P. F. Layered double hydroxides for remediation of industrial waster containing manganese and fluoride. **Journal of Cleaner Production** 171 (2018) 275 – 284.

Türk, T.; Alp, I.; Deveci, H. Adsorption of As(V) from water using Mg–Fe-based hydrotalcite (FeHT). **Journal of Hazardous Materials** 171 (2009) 665 – 670.

Vieira, A. C.; Moreira, R. L.; Dias, A. Raman Scattering and Fourier Transform Infrared Spectroscopy of  $\text{Me}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Me = Mg, Ni, Zn, Co and Mn) and  $\text{Ca}_2\text{Al}(\text{OH})_6\text{Cl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  Hydrotalcites. **The Journal of Physical Chemistry C** 113 (2009) 13358 – 13368.

Wen, J.; Fang, Y.; Zeng, G. Progress and prospect of adsorptive removal of heavy metal ions from aqueous solution using metaleorganic frameworks: a review of studies from the last decade. **Chemosphere** 201 (2018) 627 – 643.

## SPECIATION ANALYSIS OF ARSENIC IN RICE USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY COUPLED WITH HYDRIDE GENERATION ATOMIC FLUORESCENCE SPECTROMETRY (HPLC-HG-AFS)

Gabriella A. Borges<sup>a</sup>, Guilhermina de O. Souza<sup>b</sup>, Patrícia S. F. Lopes<sup>b</sup>, Virginia S. T. Ciminelli<sup>b,c</sup>, Claudia L. Caldeira<sup>b,c</sup> and Guilherme D. Rodrigues<sup>a,\*</sup><sup>a</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos 6627, Campus Pampulha, 31270-901 Belo Horizonte – MG, Brasil<sup>b</sup>Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos 6627, Campus Pampulha, 31270-901 Belo Horizonte – MG, Brasil<sup>c</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia - Recursos Minerais, Água e Biodiversidade, INCT-Acqua, 31270-901 Belo Horizonte – MG, Brasil

Recebido em 13/11/2019; aceito em 30/03/2020; publicado na web em 04/05/2020

The aim of this work was to develop a method using high performance liquid chromatography coupled with hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HPLC-HG-AFS) for the determination and speciation analysis of the inorganic and organic species of arsenic found most often in rice samples: As(V), As(III), monomethylarsinic acid (MMA), and dimethylarsinic acid (DMA). The best chromatographic resolution was obtained using pH 6.2, a phosphate buffer mobile phase concentration of 20 mmol L<sup>-1</sup> and flow rate of 0.57 mL min<sup>-1</sup>, HCl concentration of 5.55% (v/v), and NaBH<sub>4</sub> concentration of 0.90% (w/v). The accuracy of the method was confirmed by the low relative error values obtained for analysis of a certified reference material (NIST 1568b): 6.63% (total inorganic As), 3.44% (DMA), 0% (MMA), and 0.53% (total As). In recovery tests, the proposed method achieved satisfactory recoveries in the range 86-110%.

Keywords: speciation analysis; arsenic; rice.

## INTRODUCTION

Rice is a cereal obtained from *Oryza sativa* L., a monocotyledonous plant of the family *Poaceae* (grasses).<sup>1</sup> It is an important component of the diet in many countries and is therefore of considerable economic and nutritional importance. According to data of the Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA),<sup>2</sup> rice is grown and consumed in all continents of the world. The crop is mainly produced on irrigated and flooded soils, which can be problematic in regions affected by soil contamination, since elements such as inorganic arsenic (As(III) and As(V)) are both highly toxic, but As(III) are 60 times more toxic than As(V), and very soluble in water.<sup>3,4</sup> The presence of water increases the mobility of these species in the soil, as a result of which they can be absorbed by the roots of the plants and reach the grains.<sup>5</sup>

Arsenic is widely distributed in the Earth's crust, where it is generally present in low concentrations.<sup>6</sup> It is a component of over 200 mineral species,<sup>7</sup> of which 60% are arsenates, 20% are arsenosulfides also containing metals such as Fe, Pb, Cu and Ag and the remainder include arsenites, oxides, arsenides, and elemental arsenic. The most common mineral is arsenopyrite (FeAsS). The mobilization of arsenic in the environment occurs due to natural processes (climatic variations, biological activity, and volcanic activity),<sup>6</sup> as well as anthropogenic activities involving industrial emissions (mining, non-ferrous metal smelting, and combustion of fossil fuels) and the manufacture and use of fertilizers, wood preservatives, insecticides, and herbicides.<sup>8,9</sup>

Arsenic is found naturally in the environment in four oxidation states: As(V), As(III), As(0), and As(-III).<sup>10</sup> The methylated acid forms of arsenic, MMA and DMA, are only slightly toxic,<sup>11</sup> while arsenobetaine (AsB) and arsenocholine (AsC) are relatively

nontoxic.<sup>12</sup> However, arsenic is most commonly found as an oxyanion in inorganic compounds, in the species As(V) (AsO<sub>4</sub><sup>3-</sup>), highly toxic, and As(III) (AsO<sub>3</sub><sup>3-</sup>).<sup>10,13</sup>

Human exposure to arsenic can occur in several ways. Contamination can occur by skin contact or inhalation,<sup>7</sup> but the main routes are by the ingestion of contaminated drinking water or food.<sup>14</sup> Studies have shown that the greatest human exposure to arsenic by the food route is due to the consumption of cereals, with rice and rice-based foods being at the top of the list.<sup>15</sup> Long-term exposures to high levels of arsenic are associated with higher rates of skin, bladder, and lung cancers, as well as heart disease.<sup>7,11,16</sup>

Due to their high toxicity to humans, inorganic arsenic compounds are classified as Group I carcinogens by the International Agency for Research on Cancer.<sup>10,17</sup> The United States Environmental Protection Agency (USEPA) has placed these compounds at the top of the list of priority pollutants.<sup>18</sup> According to the Brazilian National Health Surveillance Agency (ANVISA), the legally established maximum tolerable limit (MTL) for this contaminant in rice and its derivatives is 300 µg kg<sup>-1</sup>.<sup>19</sup> In 2014, with the aim of ensuring consumer health, the UN Food and Agriculture Organization (FAO), together with the World Health Organization (WHO), published the FAO-WHO Codex Alimentarius establishing international standards of food safety and quality, according to which the maximum permissible content of arsenic in rice is 200 µg kg<sup>-1</sup>.<sup>20</sup>

Since the toxicity of this element depends on the chemical form in which it is present, it is important to develop methods able to determine each species of arsenic in food samples, in order to enable accurate assessment of risks.<sup>21-23</sup> Furthermore, since the maximum permissible concentrations are low, such methods must be sufficiently sensitive and accurate for determination of the content of each arsenic species. There are several methods that can be used for arsenic speciation studies. The most sensitive "hyphenated" speciation techniques involve the use of high performance liquid

\*e-mail: guilhermedr@ufmg.br

chromatography (HPLC)<sup>15,24</sup> coupled with detection using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS),<sup>24</sup> hydride generation and atomic absorption spectrometry (HG-AAS), or hydride generation and atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS).<sup>25</sup> The present work proposes the use of HPLC-HG-AFS, which provides high sensitivity and selectivity for the determination of low concentrations of hydrides of elements of environmental importance, such as those of As, Hg, Sb, Se, Bi, Cd, Sn, and Th.<sup>26</sup>

The chemical processes involved in this technique are related to the specific chemical reactions for each element. In the case of arsenic, the use of a fairly high concentration of sodium borohydride enables the conversion of DMA, MMA, As(III) and As(V) into volatile species that can be determined by AFS.<sup>27,28</sup> As(III) and As(V) form AsH<sub>3</sub>, MMA forms CH<sub>3</sub>AsH<sub>2</sub>, and DMA forms (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>AsH. The main advantage of this technique is that only the volatile hydrides are transferred to the detector in the carrier gas flow, while the sample matrix remains in the liquid, hence eliminating interferences in the detection system.<sup>29</sup>

AFS provides high sensitivity, comparable to other techniques,<sup>30</sup> while offering the advantage of lower cost. Therefore, the main objective of this work was to develop and verify an analytical methodology employing HPLC-HG-AFS for the speciation of arsenic present in different rice samples.

## EXPERIMENTAL

### Apparatus

The HPLC-HG-AFS analytical system consisted of a high performance liquid chromatograph equipped with a Dionex pump model UltiMate 3000, a Hamilton PRP-X100 anion exchange column (250 x 4.1 mm, 10 µm particle size) and operated with Chromeleon software, which was coupled to a PS Analytical Excalibur hydride generator with atomic fluorescence spectrometer detector. The optimized operating parameters were as follows: mobile phase consisting of 20 mmol L<sup>-1</sup> phosphate buffer (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) at pH 6.2; mobile phase flow rate of 0.57 mL min<sup>-1</sup>; HCl concentration of 5.55% (v/v) and flow rate of 2.5 mL min<sup>-1</sup>; NaBH<sub>4</sub> concentration of 0.90% (w/v) and flow rate of 4.5 mL min<sup>-1</sup>.

An inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS) (PerkinElmer NexION 300X), equipped with a Meinhard nebulizer and an autosampler, was operated under the following conditions: argon (99.999%) plasma gas flow rate of 15 L min<sup>-1</sup>; auxiliary gas flow rate of 1.20 L min<sup>-1</sup>; oxygen (99.99%) flow rate of 0.6 mL min<sup>-1</sup>; nebulizer flow rate of 0.9 mL min<sup>-1</sup>; 20 scans with reading time of 75 ms. To eliminate the interference of ArCl in ICP analysis, the equipment has a reaction cell (DRC-ICP-MS). Arsenic was effectively converted to AsO using oxygen as the reaction gas in DRC, and the resulting mass of AsO (91) is determined.

### Chemicals

Purified water was obtained from a Milli-Q system (Elix Technology, Singapore). All reagents were used as received, with no further purification process, as follows: 65% nitric acid (Química Moderna, São Paulo, Brazil), fuming 37% hydrochloric acid (Química Moderna, São Paulo, Brazil), sodium borohydride (Sigma-Aldrich), sodium hydroxide (Sigma-Aldrich), dibasic potassium phosphate (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) (Sigma-Aldrich), monobasic potassium phosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Sigma-Aldrich), sodium arsenite (NaAsO<sub>2</sub>) (99.0%, Fluka), cacodylic acid (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>AsO<sub>2</sub>) (98%, Sigma-Aldrich), disodium methyl arsenate hexahydrate (CH<sub>3</sub>AsO(ONa)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) (Santa Cruz Biotechnology), dibasic sodium arsenate heptahydrate

(HASNa<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·7H<sub>2</sub>O) (98.0%, Sigma-Aldrich), arsenic (1000 mg L<sup>-1</sup> in 2% HNO<sub>3</sub>) (SPEX CertiPrep), 1000 mg L<sup>-1</sup> yttrium internal standard (SPEX CertiPrep), and certified reference material NIST SRM 1568b Rice Flour (National Institute of Standards and Technology, USA) containing 180 ± 12 µg kg<sup>-1</sup> DMA, 11.6 ± 3.5 µg kg<sup>-1</sup> MMA, and 92 ± 10 µg kg<sup>-1</sup> inorganic As. For ICP-MS only, double-distilled nitric acid in a quartz distiller is required.

### Rice samples

Rice samples were obtained from national supermarket chains. The samples were rapidly frozen, using liquid nitrogen, in order to facilitate milling in a blender (Cuisinart) until the material passed through a 300 µm sieve (Viatest GmbH). The transformation of the rice into a fine powder was essential in order to ensure the best possible extraction efficiency. The material was then divided into portions of around 10 g. The samples were stored at ambient temperature, avoiding sources of light and heat.

### Extraction procedure for speciation by HPLC-HG-AFS

Approximately 1.00 g portions of milled rice were weighed out into glass tubes, followed by weighing of 10.00 g of 0.28 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>. All reagents added to the assays were weighed for the exact final calculation of the arsenic content in the fortified extract. The tubes were placed in a thermostatic bath with water circulation (Model N3, Haake), at 91.7 °C, for 90 minutes. The tubes were then removed from the bath, noting the color change from white (rice powder) to yellow at the end of the extraction. The tubes were left to cool at ambient temperature, followed by centrifugation (Baby II 206 R, Excelsa) and filtration of the supernatants through 0.22 µm syringe filters.

Quantitative determination of the arsenic species was performed using a standard additions procedure, with weighing out of 4.00 g of the filtered extract and 1.00 g of the standard (in nitric acid) containing the four species of arsenic under investigation, totaling 5.00 g of fortified extract. The procedure was based on the previous work by Farias *et al.*<sup>31</sup> and Batista *et al.*,<sup>32</sup> with adaptations according to previous studies in the laboratory.

Spiking of the samples with arsenic standards considered the limit of detection of the method for each species studied, the sensitivity, and the estimated initial amounts of each arsenic species in the samples. These estimates were obtained by direct injection of a pure extract of the fortified extract to be studied (with unknown arsenic content) into the HPLC-HG-AFS system, comparing the intensity of the signal obtained with that for a standard containing 10.00 µg kg<sup>-1</sup> of each arsenic species, using a directly proportional relation.

After spiking with arsenic standards, the fortified extract were homogenized, placed in an ultrasonic bath (Biociclo Instrumentos Científicos) for 20 min, and then analyzed by injection of aliquots into the HPLC-HG-AFS system. Each assay were performed in duplicate.

### Microwave extraction for determination of total arsenic by ICP-MS

The total arsenic content was determined by weighing out 0.2000 g of sample and transferring it to a flask, to which 2.00 mL of double-distilled nitric acid was then added. The samples were submitted to microwave digestion (ETHOS One, Milestone), using the heating program shown in Table 1.

After cooling the microwave to 38 °C, the samples were removed and left to cool to ambient temperature. The digested material was

**Table 1.** Heating program for microwave digestion of rice samples

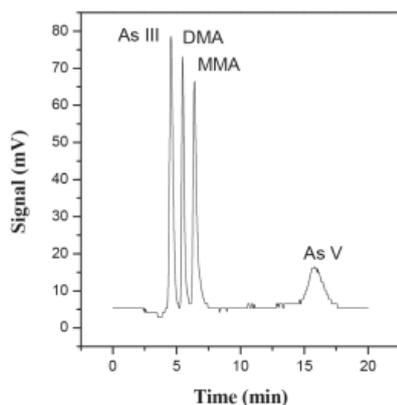
Time (min)	E(W) programmed	Temperature (°C)
10 min	1500	180
15 min	1500	180
30 min	0	cooling up to 38 °C

then quantitatively transferred to 50.0 mL polypropylene Falcon tubes by washing the PTFE digestion flasks with Milli-Q water (18.2 M $\Omega$  cm). The final solutions were weighed and the samples were stored in a refrigerator at 4.0 °C. Prior to analysis, 0.1 mL of yttrium internal standard (50  $\mu$ g kg<sup>-1</sup>) was added, with homogenization. The samples were then analyzed using the ICP-MS system.

## RESULTS AND DISCUSSION

In any speciation study, it is essential to preserve the organic and inorganic species present. Previous studies showed that extraction using 0.280 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> at 95  $\pm$  3 °C for around 90 min preserved all the species of arsenic and enabled their quantitative recovery.<sup>31-33</sup> Use of the same extraction conditions for a longer period of time (120 min) caused the reduction of As(V) to As(III),<sup>31</sup> while temperatures higher than 95  $\pm$  3 °C resulted in lower extraction efficiency. In addition, the concentration of HNO<sub>3</sub> should be in the range 0.2-0.7 mol L<sup>-1</sup>, in order to avoid the reduction of As(V) by sulfur compounds and the oxidation of As(III) due to interaction of HNO<sub>3</sub> with the extract.<sup>33</sup>

Separation of the arsenic species was achieved using an anion exchange column, since most arsenic species are present as neutral or negative ions in solution, depending on the pH.<sup>34</sup> It can be seen from the chromatogram shown in Figure 1 that the species with the lowest charge (As(III)) exited the column first, while the species with the highest charge (As(V)) was retained for a longer time. In addition, the efficiencies of hydride formation differ, hence affecting the sensitivity of the method, depending on the analyte under consideration. In the present case, all the species were present in the sample at concentrations of 10  $\mu$ g kg<sup>-1</sup>, while the signals showed different heights and areas, as observed previously by Gómez-Ariza *et al.*<sup>31</sup> and Fariás *et al.*<sup>31</sup>



**Figure 1.** Chromatogram obtained for the arsenic species standard at 10  $\mu$ g kg<sup>-1</sup> in nitric acid, under the optimized conditions: 0.90% (w/v) NaBH<sub>4</sub> in 0.1 mol L<sup>-1</sup> NaOH; pH 6.2; mobile phase concentration of 20 mmol L<sup>-1</sup>; mobile phase flow rate of 0.57 mL min<sup>-1</sup>; HCl concentration of 5.6% (v/v)

## Optimization of the method

The aim of the optimization procedure was to determine the conditions that provided satisfactory sensitivity and separation of the different species, hence resulting in accurate results. Evaluation was made of the influence on chromatographic resolution of the following parameters and their corresponding levels: pH (5.7, 5.9, 6.2, 6.5, and 6.7); concentration of the K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> buffer mobile phase (15, 17.5, 20, 22.5, and 25 mmol L<sup>-1</sup>); flow rate of the mobile phase (0.44, 0.50, 0.57, 0.64, and 0.70 mL min<sup>-1</sup>); concentration of HCl (4.6, 5.6, 6.5, 7.4, and 8.3% (v/v)); concentration of NaBH<sub>4</sub> (0.70, 0.80, and 0.90% (w/v)). The substances HCl and NaBH<sub>4</sub> are used in the hydride formation process for later detection via AFS. After the separation of the species in the chromatographic column, HCl and NaBH<sub>4</sub> are the necessary reagents for the formation of volatile hydrides. The kinetics of these chemical reactions and ensuring that they occur completely are key factors in controlling the sensitivity of the technique and the success of the analysis. These chemical reactions occur prior to detection. Although they do not interfere in the separation of arsenic species, they affect the process of hydride formation, thus influencing the quality of the chromatogram. The best conditions were selected by visual analysis of the chromatograms (Figure 2) and the calculation of the resolution according to equation 1:

$$R_{1,2} = \frac{2(tR_2 - tR_1)}{w_2 + w_1} \quad (1)$$

where *tR* is the retention time and *w* is the width of the peak base.

The optimized experimental conditions, pH of mobile phase 6.2; concentration of mobile phase K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mmol L<sup>-1</sup>; mobile phase flow rate 0.57 mL min<sup>-1</sup>; concentration of HCl 5.6% (v/v) and concentration of NaBH<sub>4</sub> 0.9% (w/v) in NaOH 0.1 mol L<sup>-1</sup> (Table 2), were used in the experiments to determine the content of each arsenic species in the rice samples.

## Method verification

Verification of the method was performed under the previously optimized conditions, in order to confirm that it was suitable for the speciation of arsenic present in the rice samples. The verification procedure followed the guidelines of the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock, and Supply (MAPA)<sup>36</sup> and Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO).<sup>37</sup>

Firstly, the relationship between the analyte concentration and the chromatographic peak area was evaluated by analyzing 15 standard solutions containing different concentrations of the species of interest, in order to identify the region in which the method provided a linear response. This procedure was performed for each arsenic species.

The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were calculated using 7 replicates of the blank, according to Equations 2 and 3 (INMETRO),<sup>37</sup> where SD is the standard deviation.

$$LOD = \frac{3.3 \times SD}{\text{slope of the analytical curve}} \quad (2)$$

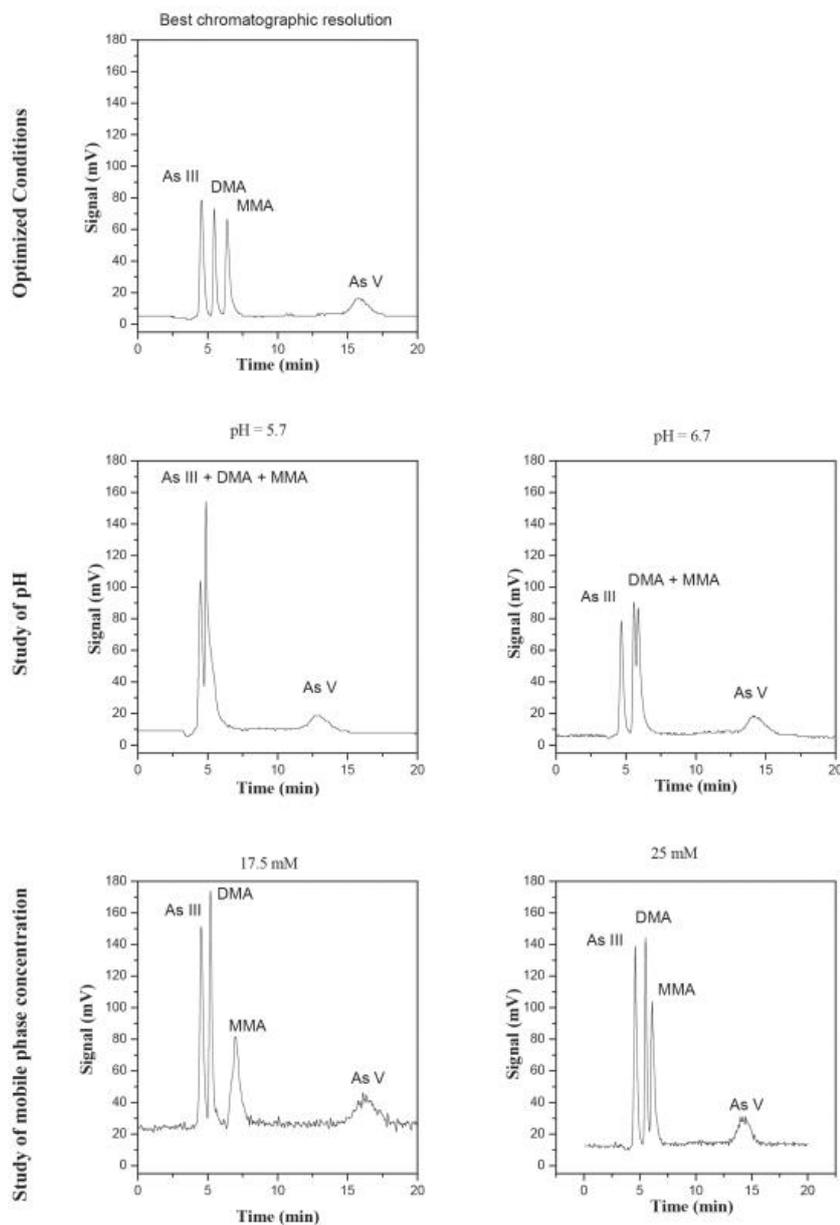
$$LOQ = \frac{10 \times SD}{\text{slope of the analytical curve}} \quad (3)$$

The LOD and LOQ values obtained (Table 3) showed that the proposed method enabled determination of very low levels of the four arsenic species. The LOQ values of the method complied with the recommended limit established in legislation (200  $\mu$ g kg<sup>-1</sup>) for

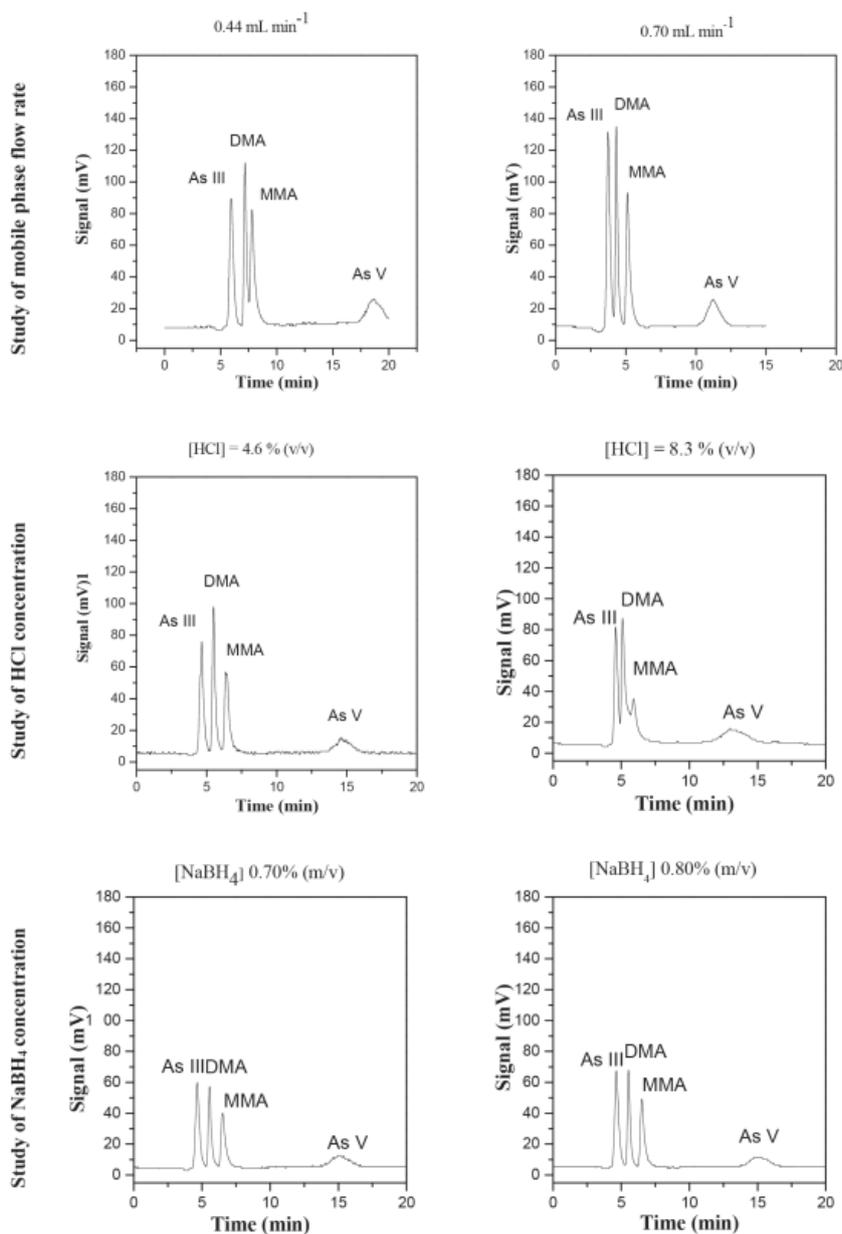
the determination of inorganic arsenic in rice samples, with values of  $1.59 \mu\text{g kg}^{-1}$  for As(III) and  $4.81 \mu\text{g kg}^{-1}$  for As(V).

Since a blank matrix without any arsenic was not available, evaluation of the effect of the matrix was performed by comparing

quantification of the analyte in an unknown sample using external calibration (employing standards of the analyte in pure solvent) and using a calibration curve constructed using extracts of the unknown sample spiked with standards in nitric acid, as recommended by



**Figure 2.** Chromatograms obtained for the arsenic species standards at  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$  in nitric acid. Fixed values of the other experimental parameters in univariate optimization: pH of mobile phase 6.2, concentration of mobile phase  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$   $20 \text{ mmol L}^{-1}$ , mobile phase flow rate  $0.57 \text{ mL min}^{-1}$ , HCl concentration 5.6% (v/v),  $\text{NaBH}_4$  concentration 0.9% (m/v) in NaOH  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$



**Figure 2.** Chromatograms obtained for the arsenic species standards at  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$  in nitric acid. Fixed values of the other experimental parameters in univariate optimization: pH of mobile phase 6.2, concentration of mobile phase  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$   $20 \text{ mmol L}^{-1}$ , mobile phase flow rate  $0.57 \text{ mL min}^{-1}$ , HCl concentration  $5.6\% \text{ (v/v)}$ ,  $\text{NaBH}_4$  concentration  $0.9\% \text{ (m/v)}$  in  $\text{NaOH } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$  (cont.)

MAPA.<sup>36</sup> This revealed the existence of a matrix effect, so it was necessary to use the standard additions method for analysis of the rice samples. The results obtained for the main parameters considered in the method verification are presented in Table 3.

The precision of the method was evaluated in terms of repeatability, with the preparation and analysis of nine standards (at three concentration levels, in triplicate) consisting of solvent ( $0.28 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ ) containing the analyte. The concentration

**Table 2.** Operational parameters used after optimization procedures

Studied parameters	Studied range	Best Conditions
pH of mobile phase	5.7; 5.9; 6.2; 6.5 and 6.7	6.2
concentration of mobile phase (mM)	15; 17.5; 20; 22.5 and 25	20
mobile phase flow rate (mL min <sup>-1</sup> )	0.44; 0.50; 0.57; 0.64 and 0.70	0.57
concentration of HCl (% v/v)	4.6; 5.6; 6.5; 7.4; 8.3	5.6
concentration of NaBH <sub>4</sub> (% m/v)	0.70; 0.80 and 0.90	0.9

**Table 3.** Analytical parameters of the proposed methodology

Analytical parameters	As (III)	DMA	MMA	As (V)
Linear range (µg kg <sup>-1</sup> )	1.59 – 20.0	1.12 – 50.0	0.26 – 20.0	4.81 – 30.0
R <sup>2</sup>	0.9998	0.9995	0.9997	0.9985
Precision% (n = 3)	2.15 (14 µg kg <sup>-1</sup> )	1.57 (14 µg kg <sup>-1</sup> )	2.56 (16 µg kg <sup>-1</sup> )	6.88 (23 µg kg <sup>-1</sup> )
LOD (µg kg <sup>-1</sup> )	0.53	0.36	0.09	1.58
LOQ (µg kg <sup>-1</sup> )	1.59	1.12	0.26	4.81

LOD: limit of detection, LOQ: limit of quantification.

levels studied were: 3.75, 8.75 and 13.75 µg kg<sup>-1</sup> for As(III) and DMA, 4.5, 10.5 and 16.5 µg kg<sup>-1</sup> for MMA and 7.5, 17.5 and 27.5 µg kg<sup>-1</sup> for As(V). The calculated coefficients of variation (CV) are shown in Table 4.

**Table 4.** Precision studies of the proposed methodology

Standards	[As III] µg kg <sup>-1</sup>	[DMA] µg kg <sup>-1</sup>	[MMA] µg kg <sup>-1</sup>	[As V] µg kg <sup>-1</sup>
$\bar{x}$ standard 1	3.75	3.87	4.38	5.73
s standard 1	0.23	0.36	0.24	0.72
CV standard 1	6.07	9.44	5.56	12.65
$\bar{x}$ standard 2	8.57	8.13	10.22	16.64
s standard 2	0.30	0.70	1.28	1.26
CV standard 2	3.49	8.63	12.52	7.54
$\bar{x}$ standard 3	13.56	13.53	15.97	23.35
s standard 3	0.29	0.21	0.41	1.81
CV standard 3	2.15	1.57	2.56	7.76

$\bar{x}$ : average, s: standard deviation, CV: coefficient of variation.

According to the criteria of MAPA<sup>36</sup> for acceptable precision, the CV value should be less than 2/3 of the value established according to the concentration. In the case of the present study (with concentrations below 1 ppm), the maximum permitted CV was (2/3 x 35)%, corresponding to 23%. The CV values obtained for standard 1 (with lower arsenic concentration) were 6.07% (As(III)), 9.44% (DMA), 5.56% (MMA), and 12.65% (As(V)). The values for standard 2 (with intermediate arsenic concentration) were 3.49% (As(III)), 8.63% (DMA), 12.52% (MMA), and 7.54% (As(V)), while for standard 3 (with higher arsenic concentration), the values were 2.15% (As(III)),

1.57% (DMA), 2.56% (MMA), and 7.76% (As(V)). It could therefore be concluded that the CV values were well below the maximum permitted value, indicating the good precision of the technique.

#### Accuracy of the method

The accuracy of the proposed methodology was evaluated by analysis of the speciation of As in a certified reference material (NIST 1568b). The analytical curves were constructed with six concentration levels. Since each HPLC-HG-AFS analysis lasted about 20 min, the study was done in duplicate for each concentration level.

The speciation results obtained for the NIST 1568b certified reference material using the proposed methodology were compared with the labeled values (total inorganic arsenic (As(III) + As(V)) = 92 ± 10 µg kg<sup>-1</sup>, DMA = 180 ± 12 µg kg<sup>-1</sup>, and MMA = 11.6 ± 3.5 µg kg<sup>-1</sup>).

The accuracy was obtained by comparing the value obtained experimentally with the certified value, with calculation of the relative error (RE), as recommended by MAPA<sup>36</sup> and INMETRO.<sup>37</sup> The RE values were 6.63% (total inorganic As), 3.44% (DMA), 0% (MMA), and 0.53% (total As), demonstrating the satisfactory accuracy of the proposed methodology (Table 5).

Figure 1S (Supplementary Material) shows the analytical curves for speciation of the NIST 1568b material. The rice extracts were spiked with standards prior to the HPLC-HG-AFS analyses, so the concentration of each arsenic species was obtained from the regression equation of the analytical curve. The concentrations of the arsenic species in the rice grains were then obtained by considering the dilutions performed during the sample preparation procedure. The first dilution was approximately 11-fold (weighing out 1.0000 g of the solid reference material and adding 10.00 g of nitric acid 0.28 mol L<sup>-1</sup>). The second dilution was 1.25-fold (weighing out 4.0000 g of the filtered

**Table 5.** Evaluation of the accuracy of the proposed method

Certified Reference Material	As III	As V	DMA	MMA	Total As AFS
NIST 1568b Rice Flour (µg kg <sup>-1</sup> )	92 ± 10		180 ± 12	11.6 ± 3.5	285 ± 14
Experimental Value (µg kg <sup>-1</sup> )	57.4	40.7	173.8	11.6	283.5
Relative Error (RE)	6.63%		3.44%	0	0.53%

AFS: Atomic Fluorescence Spectrometry.

**Table 6.** Arsenic speciation through HPLC-HG-AFS and comparison of total As content between ICP-MS analysis ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )

Amostra	As (III)	DMA	MMA	As (V)	Total As i	Total As org	Total As AFS	As total ICP	Average	s	RSD%	Error	Extraction Efficiency(%)
1568b	57.4	173.8	11.6	40.7	98.1	185.4	283.4	270.5	277.5	9.9	3.6	2.1	102.1
Rice A	47.9	112.6	7.9	65.9	113.8	120.5	234.3	220.3	232.4	17.07	7.3	0.8	100.8
Rice B	77.7	163.4	2.7	56.6	134.3	166.1	300.4	291.4	284.0	10.50	3.7	5.8	105.8
Rice C	48.9	184.5	2.4	19.8	68.7	186.9	255.5	278.2	276.0	3.14	1.1	-7.4	92.6
Rice D	101.4	112.3	4.3	21.8	123.2	116.6	239.9	215.0	218.9	5.61	2.6	9.6	109.6
Rice E	57.8	18.9	2.5	24.1	81.9	21.4	103.4	96.6	94.2	3.37	3.6	9.7	109.7
Rice F	51.9	37.1	5.9	57.9	109.8	43	152.9	167.1	173.2	8.6	5.0	11.8	88.2
Rice G	22.8	122.1	5.3	22.8	45.6	127.4	172.9	178.8	178.8			-3.3	96.7
Rice H	74.3	700.0	7.3	16.8	91.1	707.3	798.5	765.6	782.4	23.7	3.0	2.1	102.1
Rice I	29.2	72.9	3.7	31.4	60.6	76.6	137.2	151.8	158.3	9.3	5.9	13.4	86.6

As i: inorganic arsenic, As org: organic arsenic, s: standard deviation, RSD: relative standard deviation.

extract and completing to 5.0000 g with 0.28 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>).

The proposed method was applied for the determination and/or speciation of As in nine rice samples. The results obtained for each specie were then summed and compared with the values of total As determined by ICP-MS (Table 6).

The performance of the method was evaluated using recovery calculations, comparing the total As values obtained by the HPLC-HG-AFS and ICP-MS methods, considering the value obtained by ICP-MS as the reference (expected) value. According to MAPA<sup>36</sup> and INMETRO,<sup>37</sup> the recovery range considered acceptable depends on the amount of the analyte in the sample. In the case of the present samples with concentrations between 100 and 1000  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , recovery values in the range from 80 to 110% were considered acceptable.

All the recoveries were within the acceptable range, with values close to 100% (Table 6), confirming the applicability of the proposed HPLC-HG-AFS method for the speciation of arsenic in rice samples. The recoveries obtained here were compatible with those found in previous studies, for the same type of sample, where the values were in the ranges 92-103% (Farias *et al.*),<sup>31</sup> 81-117.8% (Batista *et al.*),<sup>32</sup> 89-106% (Huang *et al.*)<sup>33</sup> and 83.8-115.6% (Segura *et al.*)<sup>38</sup>

Considering the FAO-WHO Codex Alimentarius maximum permissible concentration for arsenic in rice (200  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ),<sup>20</sup> it could be concluded from the results (Table 6) that samples A, B, C, D, and H were unfit for human consumption.

The rice samples studied showed heterogeneity in terms of their arsenic contents. For example, sample H had a high total arsenic content (798.5  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), although most of this (700  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) was in the form of DMA, which is a less toxic organic arsenic species. On the other hand, sample E had the lowest total arsenic content (103.4  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), but the highest content of As(III) (57.8  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), which is the most toxic inorganic arsenic species, so this sample presented greater risk to human health. A high content of inorganic arsenic (71.9%) was also found for sample F. These results demonstrated that analysis of the total arsenic content alone is insufficient for accurate evaluation of potential risks, highlighting the importance of developing methods capable of arsenic speciation.

With the exception of samples E and F, in which there was the predominance of inorganic arsenic, the samples presented higher contents of DMA, compared to the other arsenic species, as previously found by Farías *et al.*<sup>31</sup> for rice from Argentina. Samples A, B, D, and I presented around 50% of inorganic species and 50% of organic species, while samples C, G, and H presented higher contents of organic species.

## CONCLUSIONS

The methodology applied in this work was effective for the speciation of arsenic present in rice samples. The HPLC-HG-AFS hyphenated technique was selective and provided high sensitivity, enabling the quantification of low levels of arsenic in the samples analyzed. The optimized conditions of the method were pH 6.2, phosphate buffer mobile phase concentration of 20 mmol L<sup>-1</sup>, mobile phase flow rate of 0.57 mL min<sup>-1</sup>, HCl concentration of 5.55% (v/v), and NaBH<sub>4</sub> concentration of 0.90% (w/v). These conditions enabled accurate speciation of the NIST 1568b certified reference material, as well as determination of the speciated arsenic contents of nine samples of rice.

The concentrations of arsenic species found for the rice samples revealed the importance of speciation analyses for accurate evaluation of risks. This was because some samples (such as sample H) presented a high content of total As, although most of the As was in less toxic organic forms, while others (such as sample F) had a low total arsenic content, but most of the As was present in the highly toxic inorganic form.

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary Material shows the analytical curves for speciation of the NIST 1568b material.

The linear regressions (b / a) applied in the calculation of the respective dilutions and arsenic contents (NIST 1568b) are also presented (Figure 1S).

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, APQ-03210-15 and APQ-03688-18), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Recursos Minerais, Água e Biodiversidade (INCT-Acqua) and Instituto Federal de Minas Gerais Campos Ouro Preto (IFMG – OP) for financial support and scholarships.

## REFERENCES

- Gomes, A. S.; Magalhães Júnior, A. M.; *Arroz Irrigado no Sul do Brasil*, 1ª ed., EMBRAPA Informação Tecnológica: Brasília, 2004.

2. MAPA e EMBRAPA. Projeções do Agronegócio. Brasil 2014/15 a 2024/25. Projeções de Longo Prazo. Brasília, DF, Julho, 2015.
3. Kumarathilaka, P.; Seneweera, S.; Meharg, A.; Bunschuh, J.; *Water Res.* **2018**, *140*, 403.
4. Lewchalermvong, K.; Rangkadilok, N.; Nookabkaew, S.; Suriyo, T.; Satayavivad, J.; *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 3199.
5. Weiss, D.; Khondoker, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2013**, *24*, 690.
6. Nearing, M. M.; Koch, I.; Reimer, K. J.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2014**, *99*, 150.
7. European Food Safety Authority. Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. *EFSA Journal* **2014**, *12*, 3597.
8. Ribeiro, R. V.; Vieira, J. C.; Lobo, F. A.; Froes-Silva, R. E. S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2018**, *29*, 873.
9. Hughes, M. F.; Beck, B. D.; Chen, Y.; Lewis, A. S.; Thomas, D. J.; *Fundam. Toxicol. Sci.* **2011**, *123*, 305.
10. Shamsipur, M.; Fattahi, N.; Assadi, Y.; Sadeghi, M.; Sharafi, K.; *Talanta* **2014**, *130*, 26.
11. González-Martínez, F.; Sánchez-Rodas, D.; Cáceres, D. D.; Martínez, M. F.; Quiñones, L. A.; Johnson-Restrepo, B.; *Chemosphere* **2018**, *212*, 927.
12. Liu, L. H.; He, B.; Yun, Z. J.; Sun, J.; Jiang, G. B.; *J. Chromatogr. A* **2013**, *1304*, 227.
13. Nogueira, R.; Melo, E. A.; Figueiredo, J. L. C.; Santos, J. J.; do Nascimento Neto, A. P.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2018**, *29*, 1593.
14. Abdolmohammad-Zadeh, H.; Talleb, Z.; *Talanta* **2014**, *128*, 147.
15. Cubadda, F.; Jackson, B. P.; Cottingham, K. L.; Van Horne, Y. O.; Kurzius-Spencer, M.; *Sci. Total Environ.* **2017**, *579*, 1228.
16. <http://www.fda.gov>, acessada em Abril 2020.
17. Ma, J.; Sengupta, M. K.; Yuan, D.; Dasgupta, P. K.; *Anal. Chim. Acta* **2011**, *831*, 1.
18. Chen, M. L.; Ma, L. Y.; Chen, X. W.; *Talanta* **2014**, *125*, 78.
19. <http://portal.anvisa.gov.br>, acessada em Abril 2020.
20. <http://www.fao.org>, acessada em Abril 2020.
21. Narukawa, T.; Inagaki, K.; Kuroiwa, T.; Chiba, K.; *Talanta* **2014**, *130*, 213.
22. Quináia, S. P.; Rollemberg, M. C. E.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, *12*, 37.
23. Chen, H.; Tang, Z.; Wang, P.; Zhao, F.; *Environ. Pollut.* **2018**, *238*, 482.
24. Gorny, J.; Dumoulin, D.; Lesven, L.; Noiriell, C.; Madé, B.; Billona, G.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2015**, *30*, 1562.
25. Komorowicz, I.; Baralkiewicz, D.; *Talanta* **2011**, *84*, 247.
26. Chen, Y. W.; Belzile, N.; *Anal. Chim. Acta* **2010**, *671*, 9.
27. Vilano, M.; Padro, A.; Rubio, R.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, *411*, 71.
28. Narsito, J.; Agterdenbos, J. S. S.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *237*, 189.
29. Barra, C. M.; Santelli, R. E.; Abrão, J. J.; de la Guardia, M.; *Quim. Nova* **2000**, *23*, 58.
30. Lindberg, A. L.; Goessler, W.; Grandner, M.; Nermell, B.; Vahter, M.; *Toxicol. Lett.* **2007**, *168*, 310.
31. Farias, S. S.; Londonio, A.; Quintero, C.; Befani, R.; Soro, M.; Smichowski, P.; *Microchem. J.* **2015**, *120*, 34.
32. Batista, B. L.; Souza, J. M. O.; De Souza, S. S.; Barbosa Jr, F.; *J. Hazard. Mater.* **2011**, *191*, 342.
33. Huang, J. H.; Ilgen, G.; Fecher, P.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 800.
34. Sanchez-Rodas, D.; Corns, W. T.; Chen, B.; Stockwel, P. B.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 933.
35. Gómez-Ariza, J. L.; Sanchez-Rodas, D.; Giraldez, I.; Morales, E.; *Talanta* **2000**, *51*, 257.
36. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; *Guia: Validação e Controle de Qualidade Analítica (Fármacos em Produtos para Alimentação Animal e Medicamentos Veterinários)*, Brasília, 2011.
37. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia; *Orientação sobre validação de métodos analíticos DOQ-CGCRE-008*. Revisão 05 – Agosto 2016.
38. Segura, F. R.; Souza, J. M. de O.; de Paula, E. S.; Martins Jr, A. da C.; Paulelli A. C. C.; Barbosa Jr., F.; Batista, B. L.; *Food. Res. Int.* **2016**, *89*, 169.





## Adsorption of organic and inorganic arsenic from aqueous solutions using MgAl-LDH with incorporated nitroprusside



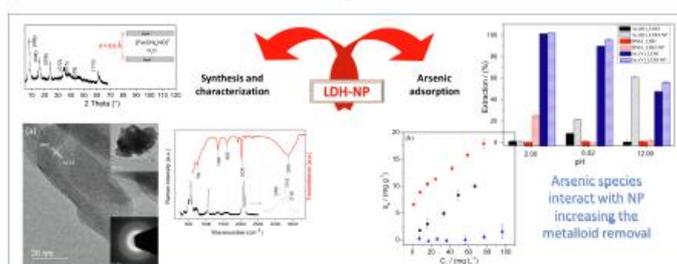
Gabriella Alexandre Borges<sup>a</sup>, Gabriel Max Dias Ferreira<sup>b</sup>, Kislá Príslén Félix Siqueira<sup>c</sup>, Anderson Dias<sup>a</sup>, Keirom Osmany Nájera Navarro<sup>b</sup>, Sílvia Juliana Barros e Silva<sup>b</sup>, Guilherme Dias Rodrigues<sup>a</sup>, Aparecida Barbosa Mageste<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry, Federal University of Minas Gerais, Av. Antônio Carlos 6627, Campus Pampulha, 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>b</sup> Laboratory of Physical Chemistry and Environmental Chemistry, Department of Chemistry, Federal University of Ouro Preto (UFOP), Campus Morro do Cruzeiro, 35400-000 Ouro Preto, MG, Brazil

<sup>c</sup> Laboratory of Ceramic Materials and Raman Spectroscopy, Department of Chemistry, Federal University of Ouro Preto (UFOP), Campus Morro do Cruzeiro, 35400-000 Ouro Preto, MG, Brazil

### GRAPHICAL ABSTRACT



### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 29 February 2020

Revised 11 April 2020

Accepted 19 April 2020

Available online 22 April 2020

#### Keywords:

Arsenic

Speciation

Adsorption

Layered double hydroxide

X-ray diffraction

Raman spectroscopy

### ABSTRACT

An evaluation was made of the use of MgAl-LDH with incorporated nitroprusside as an adsorbent to remove inorganic arsenic (As(III) and As(V)) and organic arsenic (DMA) from aqueous matrices. The material was synthesized by the co-precipitation method at constant pH and was characterized by Raman spectroscopy, infrared spectroscopy, thermogravimetry, X-ray diffraction, and high-resolution transmission electron microscopy, before and after use in the adsorption process. The effects on adsorption of contact time, initial metalloid concentration, and pH were investigated. For an initial concentration of 10 mg L<sup>-1</sup> and pH 2.00, the MgAl-LDH with incorporated nitroprusside was only able to adsorb the DMA and As(V) species, with removal percentages of 25.10 and 103.8%, respectively. At pH 6.02 and 12.00, only the inorganic species were adsorbed, with removal percentages of 22.93% and 60.07%, respectively, for As(III), and 89.81% and 71.64%, respectively, for As(V). Application of the Langmuir and Freundlich isotherm models indicated that the features of the adsorption process depended on the pH of the medium and

**Abbreviations:** LDH, layered double hydroxide; LDH-NP, layered double hydroxide with incorporated nitroprusside; q<sub>e</sub>, equilibrium amount adsorbed; C<sub>e</sub>, equilibrium concentration; WHO, World Health Organization; US EPA, United States Environmental Protection Agency; MMA, monomethylarsonic acid; DMA, dimethylarsinic acid; As(III), arsenious acid ions (H<sub>2</sub>AsO<sub>3</sub><sup>-</sup>, HAsO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, and AsO<sub>3</sub><sup>3-</sup>); As(V), arsenic acid ions (H<sub>2</sub>AsO<sub>4</sub><sup>-</sup>, HAsO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, and AsO<sub>4</sub><sup>3-</sup>); PZC, point of zero charge; %E, extraction percentage.

\* Corresponding author.

E-mail address: [aparecida.mageste@ufop.edu.br](mailto:aparecida.mageste@ufop.edu.br) (A.B. Mageste).

<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.04.078>

0021-9797/© 2020 Published by Elsevier Inc.

the arsenic species. The results showed that the use of MgAl-LDH with incorporated nitroprusside has potential for the development of techniques for the speciation of arsenic species.

© 2020 Published by Elsevier Inc.

## 1. Introduction

The contamination of water by arsenic is of global concern due to the serious human health problems that can be caused by long-term exposure to high levels of this metalloid, which can lead to the development of several types of cancer, cardiovascular and respiratory diseases, nervous system disorders, and diabetes [1]. Concentrations of total arsenic up to 5000  $\mu\text{g L}^{-1}$  have been found in subterranean waters, greatly exceeding the value of 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  recommended by the World Health Organization (WHO) and the United States Environmental Protection Agency (US EPA) [2,3], which has increased the concerns of health agencies worldwide.

Arsenic is found in nature in different chemical forms that have varying degrees of toxicity. Most commonly, arsenic is present as an oxyanion in inorganic compounds in the forms As(III) ( $\text{H}_2\text{AsO}_3^-$ ,  $\text{HAsO}_2^-$ , and  $\text{AsO}_3^{2-}$ ) and As(V) ( $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{HAsO}_4^{2-}$ , and  $\text{AsO}_4^{3-}$ ) [4], with the trivalent form being much more toxic than the pentavalent form [5]. In addition, there are organic forms of arsenic, such as monomethylarsonic acid (MMA) and dimethylarsinic acid (DMA), which are less toxic than the inorganic forms [6].

Research efforts have been devoted to the search for methods that can provide efficient removal of arsenic from water, as well as the development of techniques for speciation of the different forms of arsenic. In this context, adsorption processes are among the most efficient and widely used techniques for the removal of contaminants from water [7–12], mainly due to their low cost and ease of operation [2]. Various adsorbents have been proposed for the treatment of water containing arsenic, including cellulose derivatives, hydrogels, micro- and macro-porous resins, carbonaceous materials, red mud, lateritic soils, calcined bauxite, resins, clay minerals, and metal oxides and hydroxides [13–17]. Many of these adsorbents have limitations related to the difficulty of synthesis, low adsorption capacity, and risk of secondary pollution [3]. Consequently, there is continuing interest in the development of new materials for the adsorption of arsenic.

The use of layered double hydroxides (LDHs) to remove arsenic from water has emerged as an attractive option due to their hydrophilic nature and high anion exchange capacity [18]. LDHs, also known as anionic clays, are compounds analogous to brucite ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ), with positively charged layers whose charges are counterbalanced by interlamellar, interchangeable, hydrated anions. The chemical structure of this class of compounds can be described by the general formula  $[\text{M}_1^{2+} \text{M}_2^{3+} (\text{OH})_2]_x \text{A}^{m-}_x \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , where  $\text{M}^{2+}$  and  $\text{M}^{3+}$  are divalent and trivalent metal cations,  $\text{A}^{m-}$  is the intercalated anion with charge  $m-$ , and  $x$  is the  $\text{M}^{3+}/(\text{M}^{3+} + \text{M}^{2+})$  ratio [4]. In this way, LDHs are versatile since they can be synthesized in a variety of combinations of cations and anions. In comparison with other conventional materials usually used in adsorption studies, LDHs present good thermal stability, have memory effect, and they can be synthesized relatively simply and cheaply [19,20]. In addition, the synthesis of LDHs is highly reproducible, which is fundamental from the point of view of industrial applications. Despite these advantages, the selectivity of LDHs can be low in front the oxyanion adsorption.

Hongtao et al. [21] evaluated the adsorption of As(V) on LDH of the type MgAlFe-LDH, finding that the adsorption of this arsenic species was affected by the pH of the medium and the chemical nature of the intercalated anion, with higher adsorption capacity

achieved with the nitrate anion, compared to chloride. Lee et al. [2] obtained similar results for the effect of pH in the removal of As(V) using MgAl-LDH. In addition, it was found that the adsorption capacity increased from 19.7  $\text{mg g}^{-1}$ , using non-calcined LDH, to 102.9  $\text{mg g}^{-1}$ , using material calcined at 400 °C. More recently, Lee et al. [16] used CoAl-LDH on a boehmite surface to remove As(V) from aqueous matrices, achieving 100% removal of this species from a 2000  $\text{mg L}^{-1}$  solution using an adsorbent concentration of 1.25  $\text{g L}^{-1}$ , with As(V) becoming intercalated in the interlamellar region by means of ion exchange and complex formation. Despite advances in this area, data are scarce concerning the adsorption of other arsenic species using LDH. To the best of our knowledge, there has been only a single study evaluating the adsorption of As(III) [22], while no studies have considered the adsorption of organic arsenic.

In this work, evaluation was made of the use of LDH of the type MgAl-LDH, with incorporated nitroprusside ( $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$ ), denoted LDH-NP [23], as an adsorbent for different species of arsenic (As(III), As(V), and DMA), based on the high affinity of arsenic for species containing iron [24,25]. The material was characterized by Raman spectroscopy, infrared spectroscopy, thermogravimetry, and X-ray diffraction. Adsorption studies were performed using different contact times, initial metalloid concentrations, and pH of the medium.

## 2. Materials and methods

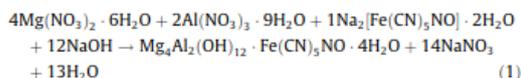
### 2.1. Reagents

Magnesium nitrate ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 99%), sodium arsenite ( $\text{AsNaO}_2$ ;  $\geq 99.0\%$ ), and cacodylic acid ( $\text{C}_2\text{H}_7\text{AsO}_2$ ;  $\geq 99.0\%$ ) were purchased from Sigma-Aldrich. Aluminum nitrate ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ; 98.0%) and sodium nitroprusside ( $[\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 99.9%) were purchased from Vetec. Nitric acid ( $\text{HNO}_3$ ; 65.0%) and sodium hydroxide ( $\text{NaOH}$ ; 99.0%) were purchased from Synth. Hydrochloric acid ( $\text{HCl}$ ; 37%) was purchased from Neon. Sodium arsenate ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 98.0%) was purchased from Merck. All the reagents used in this study were of analytical grade and were utilized as received, without further purification. Deionized water was used to prepare all the solutions.

### 2.2. Synthesis of the materials

The conventional LDH, with nominal composition  $\text{Mg}_2\text{Al}(\text{OH})_6(\text{CO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , was prepared using the co-precipitation method at constant pH [26]. Firstly, stoichiometric amounts of the reagents  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaOH}$ , and  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  were separately solubilized in deionized water. Then, the solutions with the cations ( $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Al}^{3+}$ ) were slowly added to a reaction flask containing the  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  solution (1  $\text{mol L}^{-1}$ ), where they were kept for 240 min, at 40 °C, under constant agitation. The pH of the system was maintained constant at 10 during all reaction time by the addition drop-by-drop of the  $\text{NaOH}$  solution (10  $\text{mol L}^{-1}$ ). After that time, the system was allowed in a shaker-incubator with controlled temperature (TE-424, Tecnal) for 30 h at 55 °C. The resulting suspension was filtered, washed with deionized water, and dried in an oven at 50 °C. The material obtained was macerated and stored in desiccator until use.

The LDH with intercalated nitroprusside (LDH-NP), with nominal composition  $Mg_3Al_2(OH)_{12}Fe(CN)_5NO \cdot 4H_2O$ , was also prepared by the co-precipitation method at constant pH, in a similar way as described above, following the stoichiometry of the following reaction:



Firstly, stoichiometric amounts of the reagents  $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ,  $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ , NaOH, and  $Na_2[Fe(CN)_5NO] \cdot 2H_2O$  were individually solubilized in deionized water. The cation solutions were added dropwise to a reaction flask containing the nitroprusside solution ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ), maintaining constant pH 10 by the addition of  $10 \text{ mol L}^{-1}$  NaOH solution. The mixture in the flask was kept at  $40^\circ\text{C}$ , for 240 min, under constant agitation. After this period, the resulting mixture was submitted to thermal treatment at  $55^\circ\text{C}$  for 24 h in a shaker-incubator. The solid material produced was filtered, washed with deionized water, dried in an oven at  $50^\circ\text{C}$ , macerated, and stored in desiccator until use.

### 2.3. Characterization of the synthesized materials

The crystalline structures and the presence or absence of secondary phases in the synthesized materials were investigated by X-ray diffraction (XRD) measurements, using a PANalytical X'Pert3 diffractometer operating at 45 kV and 40 mA, with  $Cu K\alpha$  radiation, and scanning in the  $2\theta$  range  $5\text{--}90^\circ$ .

Morphological, chemical and structural features of the samples were investigated by transmission electron microscopy (TEM) and related techniques: selected-area electron diffraction (SAED), energy dispersive spectroscopy (EDS), and electron energy-loss spectroscopy (EELS). A reliable and versatile Tecnai G2-20 (FEI) transmission microscope was employed at 200 kV in powders dispersed in isopropanol and ultrasonicated for 15 min. Holey carbon-copper grids of #300 mesh were used as support for all the investigated samples.

Thermogravimetric analysis (DTA-TG) was performed using a Shimadzu DTG60 analyzer equipped with an alumina sample holder. The samples were heated from  $30$  to  $600^\circ\text{C}$ , at a rate of  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ , in an atmosphere of  $N_2$ .

Infrared spectroscopy (FTIR) analyses were performed using an MB 3000 FTIR spectrometer (ABB Bomen, Quebec, Canada) operated in attenuated total reflection (ATR) mode. The spectra were acquired in the range from  $500$  to  $4000 \text{ cm}^{-1}$ .

Raman scattering data were collected in a Horiba Jobin-Yvon LABRAM HR spectrometer equipped with a Peltier-cooled CCD detector, and excitation source from a helium–neon laser ( $632.8 \text{ nm}$  and power of  $6 \text{ mW}$  on the surface of the sample). An Olympus confocal microscope ( $100\times$  objective lens) was used for obtaining a typical experimental resolution of  $1 \text{ cm}^{-1}$  in 10 accumulations of 10 s. All resulting spectra were corrected using the Bose-Einstein thermal factor [27].

The point of zero charge (PZC) of the LDH-NP was obtained as follows [28]:  $0.0250 \text{ g}$  of the material was added to  $25 \text{ mL}$  of a  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  NaCl solution in deionized water, with the initial pH adjusted to 2.01, 4.00, 5.98, 8.08, 10.01, and 11.99. The pH adjustment was performed using solutions of HCl ( $0.1$  or  $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) or NaOH ( $0.1$  or  $1 \text{ mol L}^{-1}$ ). The mixtures were then stirred for 24 h at  $150 \text{ rpm}$  and  $25^\circ\text{C}$ , followed by collection of the supernatants for determination of the final pH. The difference between the final and initial pH values ( $\Delta\text{pH}$ ) was plotted against the initial pH and the PCZ was defined as the initial pH value at which  $\Delta\text{pH}$  was zero. The experiments were performed in triplicate.

## 2.4. Adsorption experiments

### 2.4.1. Adsorption of different As species using the conventional LDH and LDH-NP

Initial arsenic adsorption tests were performed using the conventional LDH and LDH-NP. For this,  $15.0 \text{ mL}$  volumes of a  $10.00 \text{ mg L}^{-1}$  solution of arsenic (As(III), As(V), or DMA), with the pH adjusted to 2.00, 6.02, or 12.00, were added to  $125 \text{ mL}$  Erlenmeyer flasks containing  $0.0200 \text{ g}$  of the adsorbent (LDH or LDH-NP). The pH adjustment was performed using solutions of HCl ( $0.1$  or  $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) or NaOH ( $0.1$  or  $1 \text{ mol L}^{-1}$ ). The systems obtained were agitated for 24 h, at  $150 \text{ rpm}$  and  $25^\circ\text{C}$ , in a shaker-incubator with controlled temperature (TE-424, Tecnal). The samples were then collected and transferred to  $50 \text{ mL}$  centrifuge tubes, followed by centrifugation at  $3000 \text{ rpm}$  (Model 280, Excelsa 3, Fanem). The supernatant was then collected for analysis using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES – Varian 725 ES). Systems without the presence of the arsenic species were prepared in the same way and used as blanks. The experiments were performed in duplicate.

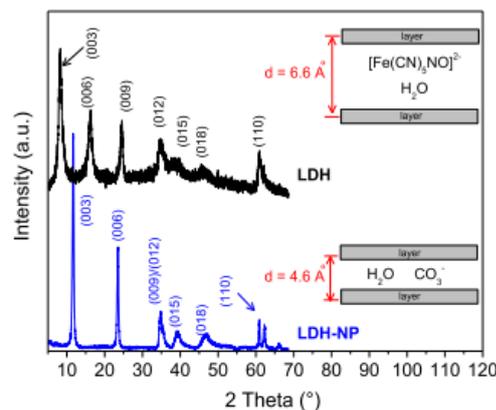
The extraction percentages (%E) obtained for the arsenic species under each condition evaluated were calculated using Equation (2).

$$\%E = \frac{[As]_{\text{initial}} - [As]_{\text{final}}}{[As]_{\text{initial}}} \times 100 \quad (2)$$

where  $[As]_{\text{initial}}$  and  $[As]_{\text{final}}$  are the concentrations of the arsenic species in the supernatant before and after the adsorption process, respectively.

### 2.4.2. Adsorption isotherms

Adsorption isotherms for adsorption of the arsenic species investigated (As(III), As(V), and DMA) on LDH-NP were obtained at pH 2.00, 6.02, and 12.00. The experiments were similar to those described in Section 2.4.1, varying the initial concentrations of arsenic in the supernatant, as follows: 10, 20, 30, 40, 60, 80, and  $100 \text{ mg L}^{-1}$  for As(III) and DMA, and 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 150, and  $200 \text{ mg L}^{-1}$  for As(V). The supernatants collected were suitably diluted prior to analysis using ICP-OES.



**Fig. 1.** XRD patterns for (a) LDH (blue line) and (b) LDH-NP (black line) materials. The crystalline planes were assigned according to ICDD card #51-1525. Schematic drawings emphasize the difference in the interlamellar spacing. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

The amounts of the arsenic species adsorbed on LDH-NP ( $q_e$ ) were calculated using Equation (3).

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m} \quad (3)$$

where  $C_0$  and  $C_e$  are the initial and equilibrium concentrations in the supernatant, respectively,  $V$  is the total supernatant volume, and  $m$  is the mass of adsorbent. The experiments were performed in duplicate.

All pH values reported throughout the Sections 2.2 and 2.3 were the values measured in pH meter, respecting the significative digits.

#### 2.4.3. Effect of contact time

Evaluation was made of the effect of the contact time on the adsorption of As(V) on LDH-NP. The experiments were performed as described in Section 2.4.1, using an arsenic solution with an initial concentration of 20 mg L<sup>-1</sup>. The contact times used were 0.5, 1, 3, 5, 7, 9, 12, 16, 20, and 24 h. The adsorbed amount at each time ( $q_t$ ) was obtained by Equation (3), in which  $C_e$  was replaced with  $C_t$ , the arsenic concentration in the supernatant at time  $t$ . The experiments were performed in duplicate.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Characterization of LDH and LDH-NP

Fig. 1 shows XRD data for the magnesium and aluminum layered double hydroxides intercalated with carbonate anions (LDH) and nitroprusside (LDH-NP).

The diffractograms confirmed the intercalation of nitroprusside, which caused a spacing increase of approximately 42%. After the intercalation, the basal space was around 6.6 Å, which is in accordance with the size of the anionic complex of the transition metal [23,29]. The materials exhibited diffraction patterns characteristic of the hydroxalite structure, with sharp and symmetric reflections of the (0 0 3), (0 0 6), and (0 0 9) basal planes, and asymmetric reflections for the (0 1 2), (0 1 5), and (0 1 8) non-basal planes. The crystalline planes were assigned according to ICDD (International Centre for Diffraction Data) card #51–1525. Basal (00l) planes are related to the stacking of the layers. Non-basal (hk0) planes are associated with the organization of the structure inside the layers, while (0kl) planes are related to the ordering of one layer relative to an adjacent layer [30]. In the present case, it could be seen that there was a blue-shift of the basal planes, due to the intercalation of the nitroprusside.

The lattice parameters  $a$  and  $c$  were calculated as described by Pérez-Ramírez et al. [31] for a hexagonal unit cell, assuming 3R polytypism for the hydroxalite. The value of the cell constant  $a$  is calculated as  $a = 2d_{(110)}$  and corresponds to the average distance of the cations present within the layers of the LDH structure. The  $c$  parameter is related to the layer thickness and interlayer distance and is commonly calculated as  $c = 3d_{(003)}$ . However, it has been proposed that  $c$  can be better determined by averaging the positions of the diffraction peaks corresponding to the basal planes:  $c = 3/2(d_{(003)} + 2d_{(006)})$  or  $c = (d_{(003)} + 2d_{(006)} + 3d_{(009)})$  [31]. In the present case, the second formula was used, since the posi-

tions of all the basal planes were easily identified. The values for the lattice parameters and the basal spacing are provided in Table 1.

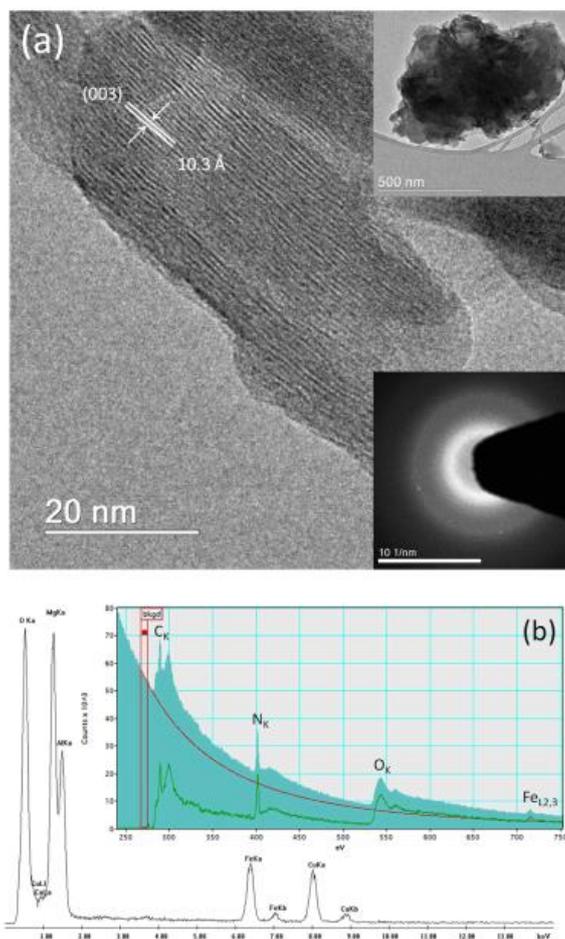
The  $d_{(003)}$  interplanar spacing represents two lamellar layers and one interlamellar layer, provided with hydrated anions. On the other hand, the  $d_{(006)}$  distance refers to the lamellar layer consisting of divalent cations, trivalent cations, and oxygen. The values found for the LDH-NP were very close to those reported by Boclair et al. [29] and Taylor et al. [32], who obtained values of 11.09 and 11.0, respectively, for  $d_{(003)}$ , and 5.57 and 5.47, respectively, for  $d_{(006)}$ . The basal spacing ( $d$ ) was calculated by the Bragg equation, using the average:  $1/3(d_{(003)} + d_{(006)} + d_{(009)})$ . The basal spacing values (Table 1) are consistent with the size of nitroprusside anions, indicating the intercalation of the complex [23,29]. The average crystallite size was determined by the Scherrer method, considering the average size between the first two well-defined peaks, either (0 0 3) or (0 0 6) [31]. The results showed that the calculated particle size of LDH-NP (8 nm) was lower than that of the conventional LDH (23 nm) (Table 1). Smaller particles imply greater peak widths, which in turn reflect less crystalline materials. Therefore, the values obtained are in accordance with the XRD results.

The results obtained from TEM analysis of the LDH-NP samples are presented in Fig. 2. Morphological features are presented as low-magnification and high-resolution TEM images, while structural characteristics of the LDH-NP samples are exhibited as SAED patterns. The morphology of the samples shows nanometer-sized platelets formed by agglomerated smaller particles (Fig. 2a, inset: top right). High-resolution TEM image (Fig. 2) shows dominating interplanar spacings of the order of 10.3 Å, which can be related to the (0 0 3) planes of the rhombohedral ( $R\bar{3}m$ ) space group, in agreement with the XRD data (Table 1). The polycrystalline character of the synthesized materials was verified by the SAED pattern (Fig. 2a, inset: bottom right), where only diffuse rings can be visualized. Chemical characteristics of the LDH-NP materials are presented in Fig. 2b. In this Figure, EDS/EELS spectra reveal both the valence electron (low-loss) peaks and the ionization edges of the fine structure of the materials. It was possible to observe and attribute many spectral features, corresponding to different excitation processes, thus corroborating the high purity of the samples. EDS spectrum evidenced the presence of Mg, Al, O, and Fe (Cu lines are due to the TEM grids), while EELS spectrum detected the presence of C, N, O, and Fe ions, as expected for chemically pure samples.

In addition to XRD and TEM, spectroscopic techniques were used to provide evidence of the insertion of anion complexes into the LDH. The FTIR and Raman spectra of LDH-NP are shown in Fig. 3. According to the literature, the insertion of cyanide-containing anions and complexes into LDH is easily demonstrated by the appearance of  $\nu(\text{CN})$  vibrations in the 2200–2000 cm<sup>-1</sup> region of the infrared spectrum of the material [29]. A broad band at around 3360 cm<sup>-1</sup> was related to stretching vibrations of the OH groups in the brucite-like layer [23,29]. A band at 2039 cm<sup>-1</sup> could be attributed to CN stretching, while a band at 1622 cm<sup>-1</sup> could be attributed to NO and OH stretching [23,29]. According to da Silva et al. [23], the presence of a strong band at 2039 cm<sup>-1</sup> for intercalated materials is due to replacement of the NO ligand by water

**Table 1**  
Lattice parameters, basal spacings, and crystallite sizes for the synthesized LDH materials.

Samples	Interplanar distance (Å)			Basal spacing (Å)	Lattice parameter (Å)		Crystallite size (nm)
	$d_{003}$	$d_{006}$	$d_{009}$		$a$	$c$	
LDH	7.57	3.78	2.57	4.64	3.04	22.84	23
LDH-NP	10.65	5.43	3.62	6.57	3.04	32.37	8



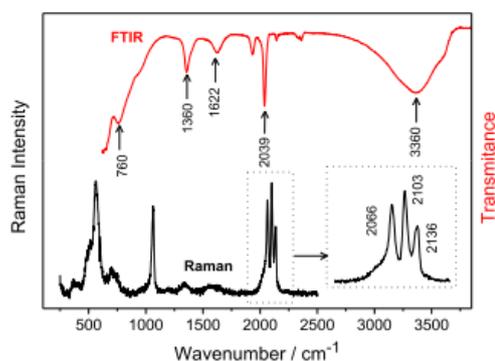
**Fig. 2.** (a) High-resolution TEM image for the LDH-NP materials with interplanar spacings of 10.3 Å, which are related to the (0 0 3) planes of the rhombohedral ( $R\bar{3}m$ ) structure. Inset: low-magnification TEM image (top right) and SAED pattern (bottom right) evidencing the polycrystalline character of the sample; (b) EDS/EELS spectra with the electronic energies of the ions present into the structure: Mg, Al and Fe signals are shown in the EDS spectrum, while C, N, O, and Fe signals are shown in the EELS spectrum.

molecules, forming  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{H}_2\text{O}]^{3-}$ , while bands at around  $1360\text{ cm}^{-1}$  are related to carbonate. In addition, a weak band at  $760\text{ cm}^{-1}$  could be assigned to Fe–N stretching and Fe–N–O bending [33].

The Raman spectrum of LDH-NP was consistent with its crystalline structure and chemical composition. The hydrotalcite structure is rhombohedral ( $R\bar{3}m$ ,  $Z = 3$ ) and the Raman spectra for different compositions have been described in detail by Bellotto et al. [34] and Richardson et al. [35]. However, according to Vieira et al. [36], the number of modes observed in the spectra for LDH-like materials are fewer than expected from the Wyckoff sites of all atoms of the unit cell. This is because these materials can exhibit very disordered structures, which can lead to deviation from the selection rules and the activation of prohibited modes in Raman spectroscopy (the same is true for infrared spectroscopy)

[36]. Therefore, the present analysis was based on the main Raman modes observed for LDH materials and nitroprusside anions. It should be noted that, to the best of our knowledge, this is the first study to present the Raman spectrum for LDH with intercalated nitroprusside.

The Raman spectrum was collected in the region from  $250$  to  $2500\text{ cm}^{-1}$ , at room temperature. A band at  $562\text{ cm}^{-1}$  corresponded to Al–OH vibration [26,36,37], while a band at around  $1064\text{ cm}^{-1}$  was related to  $\text{CO}_3^{2-}$  symmetric stretching vibration [26,37]. Both of these bands are characteristic of brucite-like structures and were in agreement with the literature [26,36–38]. Modes related to the presence of nitroprusside anions were observed in the frequency range from  $2000$  to  $2200\text{ cm}^{-1}$ . According to theoretical group calculations for the  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$  anion, strong modes would be expected at around  $2066$ ,  $2103$ , and  $2136\text{ cm}^{-1}$ , related



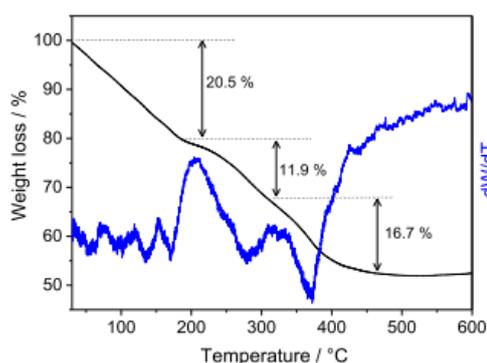
**Fig. 3.** FTIR and Raman spectra of LDH-NP. The positions of the main bands are indicated, for better visualization. The inset in the Raman spectrum shows the modes related to C–N equatorial and axial vibrations.

to C–N equatorial and axial vibrations. For better visualization, these bands are highlighted in the inset of Fig. 3, from which it can be seen that the most intense band was the second band corresponding to C–N equatorial stretching. The Raman spectrum also showed low frequency modes at around  $364\text{ cm}^{-1}$  and  $496\text{ cm}^{-1}$ , related to Fe–C–N equatorial bending and Fe–C axial stretching, respectively.

The thermogravimetric analysis and derivative curves for LDH-NP, shown in Fig. 4, revealed three stages of thermal decomposition. The first, from room temperature to  $171\text{ }^{\circ}\text{C}$ , corresponded to the release of adsorbed and interlamellar water molecules [26,36], with a mass loss of 20.5%. This release enabled determination of the number of water units present in the interlayers, with a calculated value of 7.3. The second stage of decomposition was the removal of hydroxyl ions [26,36] at around  $279\text{ }^{\circ}\text{C}$ , with a mass loss of 11.9%. The last stage, at around  $371\text{ }^{\circ}\text{C}$ , was related to decomposition of the intercalated anions [26,36,39,40], with a mass loss of 16.7%.

### 3.2. Removal of As using LDH and LDH-NP

Fig. 5 shows the removal percentages of the As(III), As(V), and DMA species by LDH and LDH-NP, at different pH values.



**Fig. 4.** Thermogravimetric analysis curves for LDH-NP: TGA (black line) and DTG (blue line). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

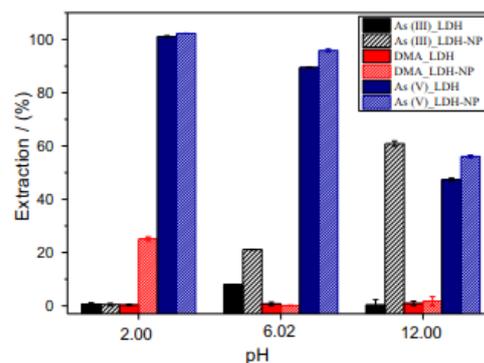
LDH presented high removal capacity for the As(V) species, under all the conditions investigated (101.07% removal at pH 2.00, 89.40% removal at pH 6.02, and 47.31% removal at pH 12.00), while low removal of the As(III) species was observed at pH 6.02 (7.93% removal). For these same species at the same pH values, the extraction percentages increased when LDH was replaced by LDH-NP, which also showed capacity for the adsorption of DMA at pH 2.00 (25.10% removal) and As(III) at pH 12.00 (60.83% removal). These results indicated that both materials (LDH and LDH-NP) were able to selectively adsorb one or another species of arsenic, which would enable their use in speciation studies. Notably, As(V) could be selectively adsorbed at pH 2.00 or 12.00, using LDH. On the other hand, at pH 2.00, LDH-NP could be used to adsorb DMA and As(V), but not As(III), while at pH 6.02 and 12.00, it could be used to adsorb only the inorganic As(III) and As(V) species. Since arsenic is most commonly found as an oxyanion in inorganic compounds in the forms of As(III) (arsenite,  $\text{AsO}_3^{3-}$ ) and As(V) (arsenate,  $\text{AsO}_4^{3-}$ ), and since the inorganic forms, especially As(III), are more toxic than the organic forms, the characteristics of adsorption of the different arsenic species on LDH-NP indicate the potential of this material to provide their speciation. Given these observations, isotherm studies were performed for adsorption of the As(III), As(V), and DMA species on LDH-NP.

### 3.3. Adsorption isotherms for the removal of different As species on LDH-NP

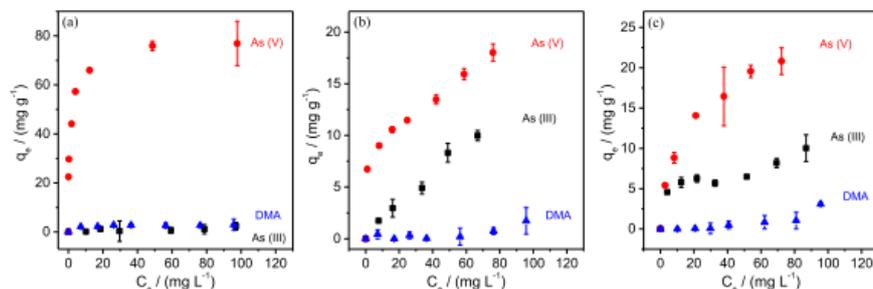
Fig. 6 shows the adsorption isotherms for removal of the As(III), As(V), and DMA species on LDH-NP, at  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The corresponding extraction percentages are shown in Fig. S1 (Supplementary Material).

In general, the adsorption isotherm profiles showed strong dependence on the adsorbed arsenic species and the pH of the medium. At pH 2.00 (Fig. 6a), only the As(V) species was adsorbed in a large extension, with a rapid increase of  $q_e$  as  $C_e$  increased to around  $40\text{ mg L}^{-1}$ , after which  $q_e$  became constant at around  $76.9\text{ mg g}^{-1}$ , indicating saturation of the adsorbent surface. Under the conditions evaluated, almost all the As(V) was removed from the solution, with extraction percentages varying between 103.8% and 87.7% (Fig. S1).

When the pH was changed from 2.00 to 6.02 (Fig. 6b), the amount of As(V) adsorbed decreased markedly, with maximum



**Fig. 5.** Percentage extraction of As(III), As(V), and DMA, using LDH and LDH-NP, at different pH values. Conditions:  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 150 rpm, contact time of 24 h, initial As concentration of  $10\text{ mg L}^{-1}$ , and adsorbent concentration of  $1.33\text{ g L}^{-1}$ . The pH values reported are the values measured in pH meter, respecting the significant digits.



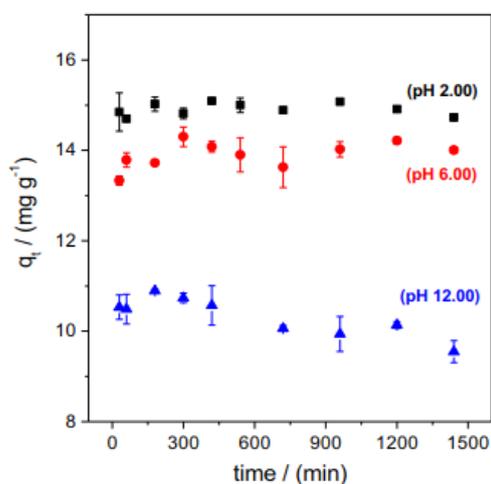
**Fig. 6.** Isotherms for adsorption of As(III) (■), As(V) (●), and DMA (▲) on LDH-NP at (a) pH 2.00, (b) pH 6.02, and (c) pH 12.00. Conditions: 25 °C, 150 rpm, contact time of 24 h, and adsorbent concentration of 1.33 g L<sup>-1</sup>.

**Table 2**

Parameters of the Langmuir and Freundlich isotherm models for the adsorption of different arsenic species on LDH-NP. Conditions: 25 °C, 150 rpm, contact time of 24 h, and adsorbent concentration of 1.33 g L<sup>-1</sup>.

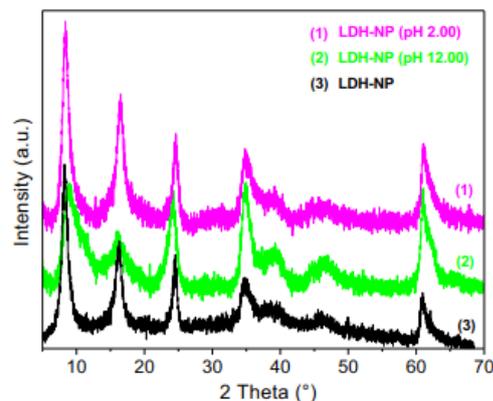
Species	Model	Parameters	pH 2.00	pH 6.02	pH 12.00
As (V)	Langmuir	$q_{max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	77.63	18.84	24.15
		$K_L$ (L mg <sup>-1</sup> )	0.92	0.10	0.07
	Freundlich	$R^2$	0.9996	0.9501	0.9866
		$K_F$	1	6.1476	3.6089
		$n$	5.8082	4.5446	2.3752
As (III)	Langmuir	$q_{max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	–	31.91	10.11
		$K_L$ (L mg <sup>-1</sup> )	–	0.0066	0.07
	Freundlich	$R^2$	–	0.4464	0.8774
		$K_F$	–	0.31	3.26
		$n$	–	1.2172	4.7776
		$R^2$	–	0.9825	0.7253

\*Fitting was not performed for the adsorption of DMA or for the adsorption of As(III) at pH 2.00, because the adsorptions were very low.



**Fig. 7.** Adsorption of As(V) on LDH-NP, as a function of time, at different pH values. Conditions: 25 °C, 150 rpm, initial adsorbate concentration of 20 mg L<sup>-1</sup>, and adsorbent concentration of 1.33 mg L<sup>-1</sup>.

$q_e$  of 18.0 mg g<sup>-1</sup> when the equilibrium concentration was 75.8 mg L<sup>-1</sup>. This decrease of  $q_e$  was accompanied by a change in the adsorption isotherm profile, which exhibited a continuous increase



**Fig. 8.** XRD patterns for LDH-NP before (black line) and after the adsorption of As (V) in an acidic medium (pH 2.00, magenta line) and a basic medium (pH 12.00, green line). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

of  $q_e$  as  $C_e$  increased, within the range investigated. In addition, there was the adsorption of a small amount of As(III), with a linear increase of  $q_e$  as  $C_e$  increased.

Finally, at pH 12.00 (Fig. 6c), the amounts of As(III) and As(V) adsorbed were similar to those obtained at pH 6.02. There was a marked change in the isotherm for As(III), with the LDH-NP surface

becoming saturated at very low concentrations of the adsorbate. The maximum  $q_e$  values obtained for As(V) and As(III) were 20.8 and 10.00  $\text{mg g}^{-1}$ , respectively.

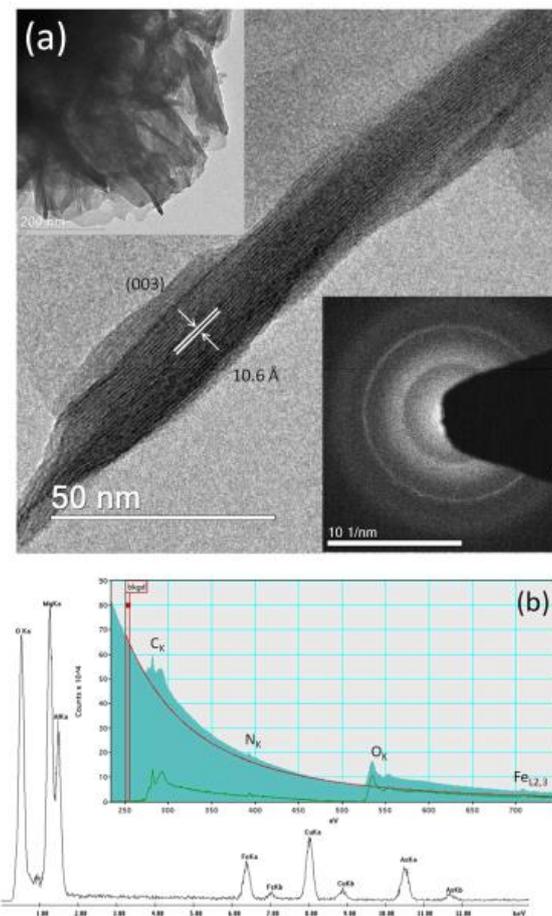
The results obtained for the adsorption of As(V) were similar to those reported by Guo et al. [24], who found that higher pH caused a decrease of the amount of As(V) adsorbed on LDH of the type CuMgFeLa-LDH, which was attributed to increased electrostatic repulsion between the As(V) species and the LDH surface. Similar

results and explanation were presented by Hongtao et al. [21] for the adsorption of As(V) on LDH of the type MgAlFe-LDH with intercalated chloride or nitrate anions.

However, it should be noted that the highest  $q_e$  values for As(V) were obtained at pH 2.00, at which some of the As(V) species were in the neutral form (Equation (4)). At the same time, the adsorption of As(III) increased when the pH was increased from 2.00, at which the species were in the neutral form, to 6.02 or 12.00, at which they

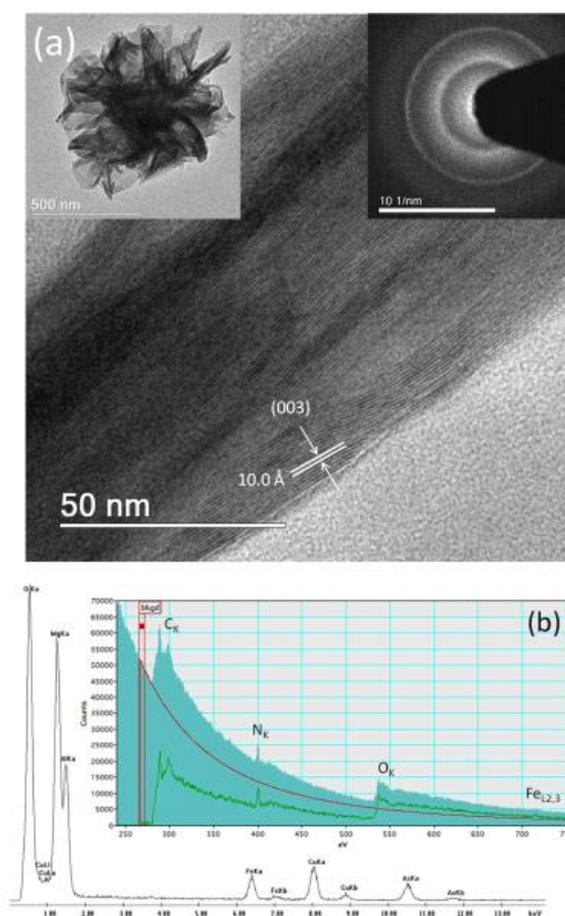
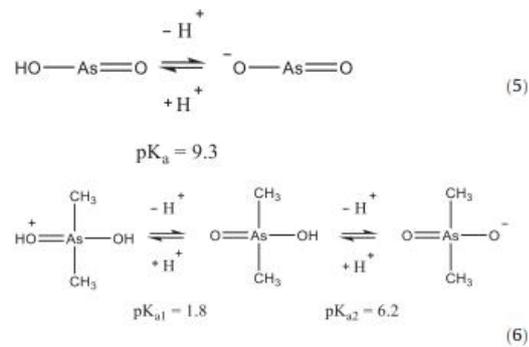
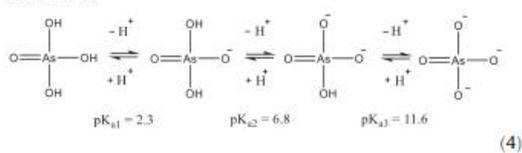
**Table 3**  
Lattice parameters, basal spacings, and crystallite sizes for the LDH-NP saturated with As(V).

Samples	Interplanar distance (Å)			Basal spacing (Å)	Lattice parameter (Å)		Crystallite size (nm)
	$d_{003}$	$d_{005}$	$d_{009}$		$a$	$c$	
LDH-NP (pH 2.00)	10.56	5.37	3.61	6.51	3.04	32.13	6
LDH-NP (pH 12.00)	9.92	5.50	3.67	6.36	3.04	31.93	5



**Fig. 9.** (a) High-resolution TEM image for the LDH-NP materials saturated with As(V) at pH = 2.00, showing interplanar spacings of 10.6 Å, corresponding to the (0 0 3) planes of the rhombohedral ( $R\bar{3}m$ ) structure. Inset: low-magnification TEM image (top left) and SAED pattern (bottom right) for the polycrystalline LDH-NP sample; (b) EDS/EELS spectra showing the electronic energies of the ions present. Note the signals from As ions ( $K_\alpha$  and  $K_\beta$ ) observed in the EDS spectrum.

were neutral or positively charged, respectively (Equation (5)). Finally, no adsorption of the DMA species was observed at pH 6.02, at which they were partially negatively charged (Equation (6)) and the LDH-NP was positively charged ( $\text{pH}_{\text{pzc}}$  equal to 8.30; Fig. S2, Supplementary Material). Hence, the adsorption of the arsenic species on LDH-NP was not only due to electrostatic attraction, but could also have involved specific interactions between the arsenic species and the nitroprusside incorporated in the LDH.



**Fig. 10.** (a) High-resolution image for the LDH-NP materials saturated with As(V) at pH = 12.00, showing interplanar spacings of 10.0 Å related to the (0 0 3) planes. Inset: low-magnification TEM image (top left) and SAED pattern (top right) evidencing the polycrystalline nature of the LDH-NP sample; (b) EDS/EELS spectra with the electronic energies of the ions clearly identified. The signals from the As(V) ions ( $K_{\alpha}$  and  $K_{\beta}$ ) can be observed in the EDS spectrum.

Table 2 shows the parameters for fitting of the Langmuir and Freundlich isotherm models to the experimental adsorption data. The fits are shown in Fig. S3 (Supplementary Material).

For the adsorption of As(V) on LDH-NP at pH 2.00 and 6.02, the Langmuir model provided the best fit to the experimental data with  $R^2$  values equals to 0.9996 and 0.9501, respectively. The maximum adsorption capacities ( $q_{max}$ ) (77.63 and 18.84 mg g<sup>-1</sup>) are in agreement with the values obtained experimentally (76.9 and 18.0 mg g<sup>-1</sup>), respectively. On the other hand, at pH 12.00, the best fit was obtained using the Freundlich model, with  $R^2$  values of 0.9912. For the adsorption of As(III), the Freundlich and Langmuir models provided the best fits to the experimental data obtained at pH 6.02 and 12.0, respectively. These results suggested that the features of the adsorption process were dependent on both the pH of the medium and the arsenic species.

Fig. 7 shows the amount of As(V) adsorbed ( $q_t$ ) as a function of time, for different pH values. The process presented rapid kinetics, with the value of  $q_t$  becoming practically constant after 30 min.

#### 3.4. Characterization of LDH-NP saturated with As(V)

Characterization was performed of LDH-NP once it had been saturated with As(V). Fig. 8 shows XRD data of LDH-NP after adsorption of As(V) at pH 2.00 and 12.00, as well as of pure LDH-NP, in order to compare the structures of the materials before and after the adsorption. It can be seen that the adsorption of As(V) did not alter the structure of the material, since the samples exhibited the same diffraction pattern. The interplanar distances for LDH-NP saturated with As(V) at pH 2.00 were 10.56, 5.37, and 3.61 Å for  $d_{003}$ ,  $d_{006}$ , and  $d_{009}$ , respectively. The calculated basal spacing was 6.51 Å and the crystallite size was 6 nm. For LDH-NP saturated with As(V) at pH 12.00, the values obtained for the interplanar distances were  $d_{003}$  = 9.92 Å,  $d_{006}$  = 5.50 Å, and  $d_{009}$  = 3.67 Å, resulting in basal spacing of 6.36 Å and crystallite size of 5 nm. The basal spacing remained almost unchanged after the adsorption of As(V), suggesting that arsenic did not replace the nitroprusside in the LDH structure (see Table 3), but it interacted with the anionic complex.

The LDH-NP samples saturated with As(V) were also investigated by TEM, and the results are displayed in Figs. 9 and 10. Morphologies and chemical/structural features of the LDH-NP materials saturated at pH = 2.00 and pH = 12.00 were examined. Fig. 9 presents TEM/SAED images (Fig. 9a), and EDS/EELS spectra (Fig. 9b) obtained for the LDH-NP materials saturated at pH = 2.00. The morphology of the samples shows also nanometer-sized platelets (Fig. 9a, inset: top left), while high-resolution TEM image (Fig. 9) shows well-defined interplanar spacings of the order of 10.6 Å, which are related to the (0 0 3) planes, in agreement with the results from XRD (Table 1). The polycrystalline character of these LDH-NP materials (pH = 2.00) could be verified (SAED pattern, Fig. 9a, inset: bottom right), where diffuse rings are present. Fig. 9b presents the EDS/EELS data with many spectral features corresponding to different excitation processes. EDS spectrum showed the presence of As(V) ions, as expected for the samples treated at pH = 2.00. Fig. 10 shows the results of the TEM characterization for the samples saturated at pH = 12.00. Again, polycrystalline, nanometer-sized platelets could be observed (see inset, top images), with interplanar spacing of about 10.0 Å, which is in agreement with the XRD data (Table 1). As(V) ions were easily detected in these LDH-NP samples by EDS (Fig. 10b), as expected for these saturated materials at pH = 12.00.

Fig. 11 shows the FTIR (Fig. 11a) and Raman (Fig. 11b) spectra for LDH-NP saturated with As(V). The bands in the FTIR spectra were practically the same for all the samples analyzed, indicating that there was no structural change of the LDH after the incorpora-

tion of As(V). However, a band at around 1932 cm<sup>-1</sup> in the spectra for pure LDH-NP (Fig. 3) and LDH-NP saturated with As(V) at pH 12.00 was not observed when the material was saturated with As(V) at pH 2.00. This band at around 1932 cm<sup>-1</sup> was related to NO stretching, so the results suggested that the acidic medium favored the release of the nitric oxide ligand from the complex during intercalation [23,29]. It is known that nitroprusside decomposes to produce ferrocyanide and nitrosyl groups, following insertion into LDH [29]. Hence, the presence of [Fe(CN)<sub>5</sub>H<sub>2</sub>O]<sup>3-</sup> was predominant in the interlamellar domain of LDH-NP at pH 2.00. On the other hand, for LDH-NP and LDH-NP loaded with As(V) at pH 12.00, the spectra showed the presence of bands related to NO stretching, suggesting the coexistence of [Fe(CN)<sub>5</sub>NO]<sup>2-</sup> and [Fe(CN)<sub>5</sub>H<sub>2</sub>O]<sup>3-</sup> in the interlamellar domain of MgAl-LDH [23]. Finally, the Raman spectra for the pure material and the materials saturated with As(V) were very similar, corroborating the XRD and FTIR results indicating that the adsorption did not cause structural changes in the material. There was only a slight difference in the region from 2000 to 2200 cm<sup>-1</sup>, with the presence of the arsenic species in the structure of the material resulting in the absence of the third vibrational mode corresponding to the equatorial and axial vibration of C–N, at approximately 2136 cm<sup>-1</sup>. Therefore, it was likely that the presence of As(V) inhibited this vibrational mode, characteristic of the [Fe(CN)<sub>5</sub>NO]<sup>2-</sup> anion.

#### 3.5. Comparison with literature data

Table 4 presents a list of different adsorbents that have been used to remove As(V) from aqueous solutions. Comparison among the materials shows that LDH-NP present a good performance, because its adsorption capacity ( $q_{max}$ ) is between the maximum and minimum values reported in the literature for other LDHs. In addition, this value is comparable to most of other conventional materials such as hydrogels and cellulose derivatives.

## 4. Conclusions

The LDH of the type MgAl-LDH with incorporated nitroprusside as an adsorbent was applied for the removal of different species of arsenic from aqueous solutions. For the first time, the adsorption of organic arsenic on LDH was evaluated. The incorporation of nitroprusside in the LDH affected the adsorption characteristics of the material, leading to increases of the extraction percentages for

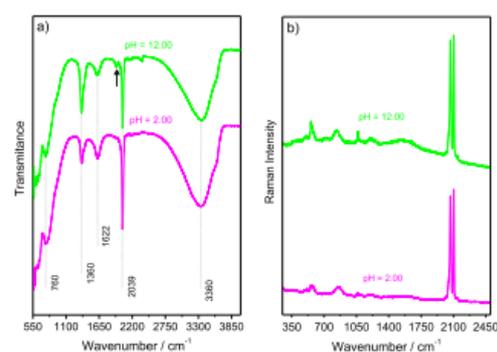


Fig. 11. (a) FTIR and (b) Raman spectra of LDH-NP after As(V) adsorption. The green and magenta lines represent the results obtained for pH 12.00 and 2.00, respectively. The positions of the main FTIR bands are indicated, for better visualization. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

**Table 4**  
Comparison among different adsorbent materials for removal of As(V) from aqueous solutions.

Adsorbent	q <sub>max</sub> (mg g <sup>-1</sup> )	T (°C)	pH	Equilibrium time (min)	Reference
MgAl-LDH-NP	77.63	25	2.00	30	This study
Calcinated MgAl-LDH	102.9	25	3.00	360	[2]
CuMgFeLa-LDH	25.6–43.5	25	6.00	480	[24]
La(III)-montmorillonite Hydrogel beads	58.75	25	4.00	240	[41]
CoFeAl-LDH@Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @PA	167	25	6.00	5	[42]
Magnetite-loaded amino modified nanocellulose	85.3	25	6.00	90	[43]
Magnetite-loaded amino modified microcellulose	18.5	25	6.00	60	[43]

inorganic arsenic species, at all the pH values studied. The amounts of arsenic adsorbed varied according to the initial pH of the solution and the chemical nature of the arsenic species, indicating that the adsorption process was governed by electrostatic forces and specific interactions between the arsenic species and the nitroprusside incorporated in the LDH. In addition, the features of the adsorption process depended on the pH of the medium and the arsenic species as suggested by the analysis of the Langmuir and Freundlich isotherm models. Finally, the antagonistic behaviors of adsorption for the different arsenic species in the different conditions studied indicated the possibility of the material being used to selectively remove DMA, As(III), and/or As(V) under specific conditions, making this material a potential adsorbent for the treatment of water contaminated with arsenic or for the arsenic speciation.

#### CREdIT authorship contribution statement

**Gabriella Alexandre Borges:** Investigation, Formal analysis, Visualization, Writing - original draft. **Gabriel Max Dias Ferreira:** Conceptualization, Methodology, Writing - review & editing. **Kisla Prislén Félix Siqueira:** Methodology, Visualization, Writing - original draft. **Anderson Dias:** Methodology, Visualization, Writing - original draft. **Keirom Osmany Najera Navarro:** Investigation. **Silvia Juliana Barros e Silva:** Investigation. **Guilherme Dias Rodrigues:** Validation, Methodology. **Aparecida Barbosa Mageste:** Resources, Project administration, Conceptualization.

#### Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgements

The authors are grateful to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, grants APQ-03210-15 and APQ-00540-17), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, grant 309668/2019-0), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Finance Code 001), Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP, grant 231109.004080/2019-88), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), and Instituto Federal de Minas Gerais Campus Ouro Preto (IFMG - OP) for financial support and scholarships. The Center of Microscopy at the Universidade Federal de Minas Gerais (<http://www.microscopia.ufmg.br>) is also acknowledged for providing the equipment and technical support for experiments involving electron microscopy. Thanks are also due to the Laboratório de Biohidrometalurgia e Tratamento de Efluentes (UFOP) for conducting the analysis using ICP-OES.

#### Appendix A. Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.04.078>.

#### References

- [1] S. Islam, M.M. Rahman, M.A. Rahman, R. Naidu, Inorganic arsenic in rice and rice-based diets: health risk assessment, *Food Control* 82 (2017) 196–202, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.06.030>.
- [2] S.H. Lee, M. Tanaka, Y. Takahashi, K.W. Kim, Enhanced adsorption of arsenate and antimionate by calcined Mg/Al layered double hydroxide: Investigation of comparative adsorption mechanism by surface characterization, *Chemosphere* 211 (2018) 903–911, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.153>.
- [3] R. Mukhopadhyay, K.M. Manjaiah, S.C. Datta, B. Sarkar, Comparison of properties and aquatic arsenic removal potentials of organically modified smectite adsorbents, *J. Hazard. Mater.* 377 (2019) 124–131, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.05.053>.
- [4] P. Maziarz, J. Matusika, T. Strączek, C. Kapustab, W.M. Wochb, W. Tokarzb, A. Radziszewskac, T. Leiviská, Highly effective magnet-responsive LDH-Fe oxide composite adsorbents for As(V) removal, *Chem. Eng. J.* 362 (2019) 207–216, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.017>.
- [5] H. Uppal, S. Chawla, A.G. Joshi, D. Haranath, N. Vijayan, N. Singh, Facile chemical synthesis and novel application of zinc oxysulfide nanomaterial for instant and superior adsorption of arsenic from water, *J. Clean. Prod.* 208 (2019) 458–469, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.023>.
- [6] F. González-Martínez, D. Sánchez-Rodas, D.D. Cáceres, M.F. Martínez, L.A. Quiñones, B. Johnson-Restrepo, Arsenic exposure, profiles of urinary arsenic species, and polymorphism effects of glutathione-S-transferase and metallothioneins, *Chemosphere* 212 (2018) 927–936, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.139>.
- [7] A.E. Burakov, E.V. Galunin, I.V. Burakova, A.E. Kucherova, S. Agarwal, A.G. Tkachev, V.K. Gupta, Adsorption of heavy metals on conventional and nanostructured materials for wastewater treatment purposes: a review, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 148 (2018) 702–712, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.034>.
- [8] C.B. Godiya, Y. Xiao, X. Lu, Amine functionalized sodium alginate hydrogel for efficient and rapid removal of methyl blue in water, *Int. J. Biol. Macromol.* 144 (2020) 671–681, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.139>.
- [9] A.R. Hernandez-Martínez, J.A. Lujan-Montelongo, C. Silva-Cuevas, J.D. Mota-Morales, M. Cortez-Valadez, A.J. Ruiz-Baltazar, M. Cruz, J. Herrera-Ordóñez, Swelling and methylene blue adsorption of poly(N, N-dimethylacrylamide-co-2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogel, *React. Funct. Polym.* 122 (2018) 75–84, <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2017.11.008>.
- [10] J. Mohanraj, D. Durgalakshmi, S. Balakumar, P. Aruna, S. Ganesan, Saravanan Rajendran, Mu. Naushad, Low cost and quick time absorption of organic dye pollutants under ambient condition using partially exfoliated graphite, *J. Water Process Eng.* 34 (2020) 101078–101085, <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.101078>.
- [11] A.L. Ramos-Jacques, J.A. Lujan-Montelongo, C. Silva-Cuevas, M. Cortez-Valadez, M. Estevez, A.R. Hernandez-Martínez, Lead (II) removal by poly(N, N-dimethylacrylamide-co-2-hydroxyethyl methacrylate), *Eur. Polym. J.* 101 (2018) 262–272, <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.02.032>.
- [12] Y. Yue, X. Wang, Q. Wu, J. Han, J. Jiang, Highly recyclable and super-tough hydrogel mediated by dual-functional TiO<sub>2</sub> nanoparticles toward efficient photodegradation of organic water pollutants, *J. Colloid Interface Sci.* 564 (2020) 99–112, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.12.069>.
- [13] Z.A. Bhatti, K. Qureshi, G. Maitlo, S. Ahmed, Study of PAN fiber and iron ore adsorbents for arsenic removal, *Civil Eng.* 6 (2020) 548–562, <https://doi.org/10.28991/cej-2020-03091491>.
- [14] X. Guo, F. Chen, Removal of arsenic by bead cellulose loaded with iron oxyhydroxide from groundwater, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 6808–6818, <https://doi.org/10.1021/es048080k>.
- [15] X. Guo, Y. Du, F. Chen, H. Park, Y. Xie, Mechanism of removal of arsenic by bead cellulose loaded with iron oxyhydroxide (Fe(OH)<sub>3</sub>): EXAFS study, *J. Colloid Interface Sci.* 314 (2007) 427–433, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.05.071>.
- [16] S.Y. Lee, K.W. Jung, J.W. Choi, Y.J. Lee, In situ synthesis of hierarchical cobalt-aluminum layered double hydroxide on boehmite surface for efficient removal of arsenate from aqueous solutions: Effects of solution chemistry factors and

- sorption mechanism, *Chem. Eng. J.* 368 (2019) 914–923, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.03.043>.
- [17] D. Santra, R. Ghosh, M. Das, P. Majumdar, M. Sarkar, Adsorption of arsenic(V) onto metal loaded cellulose nanocomposite bead (mcnb)-isotherm and thermodynamic study, *Eur. Chem. Bull.* 3 (2014) 692–698, <https://doi.org/10.17628/ECB.2014.3.692>.
- [18] J. Wang, T. Zhang, M. Li, Y. Yang, P. Lu, P. Ning, Q. Wang, Arsenic removal from water/wastewater using layered double hydroxide derived adsorbents, a critical review, *RSC Adv.* 8 (2018) 22694–22709, <https://doi.org/10.1039/c8ra03647k>.
- [19] H. Asiabi, Y. Yamini, M. Shamsayei, Highly selective and efficient removal of arsenic(V), chromium(VI) and selenium(VI) oxyanions by layered double hydroxide intercalated with zwitterionic glycine, *J. Hazard. Mater.* 339 (2017) 239–247, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.06.042>.
- [20] K. Goh, T. Lima, Z. Dong, Application of layered double hydroxides for removal of oxyanions: a review, *Water Res.* 42 (2008) 1343–1368, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.10.043>.
- [21] L. Hongtao, L. Shuxia, Z. Hua, O. Yanling, Y. Daqiang, Z. Jianfua, Z. Zhiliang, Comparative study on synchronous adsorption of arsenate and fluoride in aqueous solution onto MgAlFe-LDHs with different intercalating anions, *RSC Adv.* (2018), <https://doi.org/10.1039/c8ra05968c>.
- [22] G.P. Gillman, A simple technology for arsenic removal from drinking water using hydroxalate, *Sci. Total Environ.* 366 (2006) 926–993, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.036>.
- [23] L.F. da Silva, J. Tronto, H.P. Oliveira, J.B. Valim, Intercalation and electrochemical studies of nitroprusside anion into Zn-Al layered double hydroxide, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 46 (2003) 187–193, <https://doi.org/10.1023/A:1026370917291>.
- [24] Y. Guo, Z. Zhua, Y. Qiub, J. Zhao, Adsorption of arsenate on Cu/Mg/Fe/La layered double hydroxide from aqueous solutions, *J. Hazard. Mater.* 239 (2012) 279–288, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.08.075>.
- [25] T. Türk, I. Alp, H. Deveci, Adsorption of As(V) from water using Mg-Fe-based hydroxalate (FeHT), *J. Hazard. Mater.* 171 (2009) 665–670, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.06.052>.
- [26] M.A. Teixeira, A.B. Mageste, A. Dias, L.S. Virtuoso, K.P.F. Siqueira, Layered double hydroxides for remediation of industrial waster containing manganese and fluoride, *J. Clean. Prod.* 171 (2018) 275–284, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.010>.
- [27] W. Hayes, R. Loudon, *Scattering of Light by Crystals*, Wiley, New York, 1978.
- [28] S. Periyasamy, V. Gopalakannan, N. Viswanathan, Hydrothermal assisted magnetic nano-hydroxyapatite encapsulated alginate beads for efficient Cr(VI) uptake from water, *J. Environ. Chem. Eng.* 6 (2018) 1443–1454, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.01.007>.
- [29] J.W. Bocclair, P.S. Braterman, B.D. Brister, F. Yarberr, Layer-anion interactions in magnesium aluminum layered double hydroxides intercalated with cobaltcyanide and nitroprusside, *Chem. Mater.* 11 (1999) 2199–2204, <https://doi-orig.ez27.periodicos.capes.gov.br/10.1021/cm990148l>.
- [30] M.V. Bukhtiyarova, A review on effect of synthesis conditions on the formation of layered double hydroxides, *J. Solid State Chem.* 269 (2019) 494–506, <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2018.10.018>.
- [31] J. Pérez-Ramírez, G. Mul, F. Kapteijn, J.A. Moulijn, In situ investigation of the thermal decomposition of Co-Al hydroxalate in different atmospheres, *J. Mater. Chem.* 11 (2001) 821–830, <https://doi.org/10.1039/b009320n>.
- [32] J.C. Taylor, M.H. Mueller, R.L. Hitterman, A neutron diffraction study of ferroelectric, KFCT, K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>·3D<sub>2</sub>O, above the curie temperature, *Acta Cryst. A26* (1970) 559–567, <https://doi.org/10.1107/S0567739470001407>.
- [33] P.P. Ghalsasi, P.S. Ghalsasi, D.V.S. Muthu, Back-bonding signature with high pressure: Raman studies on silver nitroprusside, *Inorg. Chem.* 56 (2017) 9669–9675, <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b01151>.
- [34] M. Bellotto, B. Rebours, O. Clause, J. Lynch, D. Bazin, E. Elkaim, A reexamination of hydroxalate crystal chemistry, *J. Phys. Chem.* 100 (1996) 8527–8534, <https://doi.org/10.1021/jp960039j>.
- [35] M.C. Richardson, P.S. Braterman, Infrared spectra of oriented and nonoriented layered double hydroxides in the range from 4000 to 250 cm<sup>-1</sup>, with evidence for regular short-range order in a synthetic magnesium-aluminum LDH with Mg:Al = 2:1 but not with Mg:Al = 3:1, *J. Phys. Chem.* C 111 (2007) 4209–4215, <https://doi-orig.ez27.periodicos.capes.gov.br/10.1021/jp064744w>.
- [36] A.C. Vieira, R.L. Moreira, A. Dias, Raman scattering and fourier transform infrared spectroscopy of Me<sub>2</sub>Al<sub>2</sub>(OH)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (Me = Mg, Ni, Zn, Co and Mn) and Ca<sub>2</sub>Al(OH)<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O hydroxalates, *J. Phys. Chem. C* 113 (2009) 13358–13368, <https://doi.org/10.1021/jp902566r>.
- [37] J. Pérez-Ramírez, G. Mul, J.A. Molijn, In situ Fourier transform infrared and laser Raman spectroscopic study of the thermal decomposition of Co-Al and Ni-Al hydroxalates, *Vibration. Spec.* 27 (2001) 75–88, [https://doi.org/10.1016/S0924-2031\(01\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S0924-2031(01)00119-9).
- [38] A.D. Santo, H. Osiry, E. Reguera, P. Alborés, R.E. Carbonio, A.B. Altabet, D.M. Gil, New coordination polymers based on 2-methylimidazole and transition metal nitroprusside containing building blocks: synthesis, structure and magnetic properties, *New J. Chem.* 42 (2018) 1347–1355, <https://doi.org/10.1039/C7NJ03585C>.
- [39] D. Cosano, C. Esquinas, C.J. Sanchidrián, J.R. Ruiz, Use of Raman spectroscopy to assess the efficiency of MgAl mixed oxides in removing cyanide from aqueous solutions, *Appl. Surf. Sci.* 364 (2016) 428–433, <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.12.181>.
- [40] M.A. Aramendia, Y. Avilés, V. Borau, J.M. Luque, J.M. Marinas, J.R. Ruiz, F.J. Urbano, Thermal decomposition of Mg/Al and Mg/Ca layered-double hydroxides: a spectroscopic study, *J. Mater. Chem.* 9 (1999) 1603–1607, <https://doi-orig.ez27.periodicos.capes.gov.br/10.1039/A900535H>.
- [41] S. Yan, Q. An, L. Xia, S. Liu, S. Song, J.R. Rangel-Méndez, As(V) removal from water using the La(III) - montmorillonite hydrogel beads, *React. Funct. Polym.* 147 (2020) 1–9, <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2019.104456>.
- [42] L. Adinasab, N. Djafarzadeh, A. Maghsodi, A new magnetic bio-sorbent for arsenate removal from the contaminated water: characterization, isotherms, and kinetics, *Environ. Health Eng. Manage. J.* 7 (2020) 49–58, <https://doi.org/10.34172/EHEM.2020.07>.
- [43] K. Taleb, J. Markovski, Z. Velickovic, J. Rusmirovic, M. Rancic, V. Pavlovic, A. Marinkovic, Arsenic removal by magnetite-loaded amino modified nano/microcellulose adsorbents: effect of functionalization and media size, *Arab. J. Chem.* 12 (2019) 4675–4693, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.08.006>.