

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Roberta Condé de Assis

**ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE As(III) E As(V) EM SISTEMAS AQUOSOS
BIFÁSICOS: UMA NOVA METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO E
ESPECIAÇÃO DE ARSÊNIO INORGÂNICO**

Belo Horizonte

2017

UFMG / ICEX / DQ. 1193
D. 654

Roberta Condé de Assis

**ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE As(III) E As(V) EM SISTEMAS AQUOSOS
BIFÁSICOS: UMA NOVA METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO E
ESPECIAÇÃO DE ARSÊNIO INORGÂNICO**

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

Belo Horizonte

2017

A848e Assis, Roberta Condé de
2017 Estudo da extração de As(III) e As(V) em sistemas
D aquosos bifásicos [manuscrito] : uma nova metodologia
para determinação e especiação de arsênio inorgânico /
Roberta Condé de Assis. 2017.
[xv], 62 f. : il.

Orientador: Guilherme Dias Rodrigues.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais - Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1. Química analítica - Teses 2. Arsênio -
Especiação química - Teses 3. Extração (Química) -
Teses I. Rodrigues, Guilherme Dias, Orientador II.
Título.

CDU 043




"Estudo da Extração de As(III) e As(V) em Sistemas Aquosos Bifásicos: Uma Nova Metodologia para Determinação e Especificação de Arsênio Inorgânico"

Roberta Condê de Assis

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Prof. Guilherme Dias Rodrigues - Orientador
UFMG


Profa. Aparecida Barbosa Mageste
UFOP


Dra. Cláudia Lima Caldeira
UFMG

Belo Horizonte, 17 de fevereiro de 2017.

Agradecimentos

À Deus por sempre me abençoar, me guiar e me conceder forças e coragem para realizar mais essa etapa;

À Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), ao Departamento de Química (incluindo todos os funcionários e professores) e a pós-graduação pela oportunidade de estudo;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro;

À banca formada pela professora Aparecida Mageste e pela pesquisadora Cláudia Caldeira que aceitaram o convite de participar e contribuir para a melhoria deste trabalho;

Ao laboratório do departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da UFMG (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Recursos Minerais, Água e Biodiversidade - INCT-Acqua), em especial à professora Virginia Ciminelli e à pesquisadora Claudia Caldeira, e à Guilhermina, Patrícia e Filipe;

Ao meu orientador Prof. Guilherme Dias Rodrigues, pela paciência, ajuda, confiança, por estar sempre presente quando precisei, que não foram poucas as vezes. E por ser além de tudo um amigo nesses dois anos, uma pessoa que eu pude contar aqui em BH, sempre atencioso e preocupado, muito obrigada;

A todos os amigos do LaSAV e de todo Lab214, Alberto, Douglas, Pablo, Rodrigo, Letiere, Millena, Gabriella, Junielly, Carolina, Karen, Leandro, e Werônica, vocês foram essenciais. Em especial a Betânia, pela amizade, pelos ensinamentos de SAB e pela

companhia; e a Dani e Mari, pelas conversas, saídas, viagem e desabafos, obrigada meninas;

Aos meus amigos de Viçosa/UFV, sem vocês aqui do meu lado tudo seria mais difícil. Obrigada principalmente ao Diego, Fabiane, Fabíola e Talita. Vocês não sabem como foram importantes pra mim, minha família de BH;

À minha irmã, Tamires, que além de companheira e amiga é minha Química preferida. Sempre me ajudando, lendo meus trabalhos, corrigindo, me apoiando... Essa conquista também é sua, obrigada;

Aos meus pais, Roberto e Vera, minha base. Reconheço e agradeço todos os dias o esforço de vocês pra eu conseguir realizar os meus sonhos. E a todos meus familiares que entenderam minha distância e ausência em muitos momentos importantes para nós;

A todos aqueles que contribuíram para conclusão desse trabalho, meu agradecimento.

Sumário

Agradecimentos.....	iii
Índice de Figuras	vii
Índice de Tabelas... ..	xi
Abreviaturas.....	xii
Resumo.....	xiv
Abstract.....	xv
1. Introdução.....	1
1.1. Arsênio	1
1.2 Revisão da literatura.....	4
1.3. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES)....	8
1.4. Química Verde.....	11
1.5. Sistemas Aquosos Bifásicos (SAB)	12
1.5.1. Breve Histórico	12
1.5.2. Princípios e Propriedades do SAB	13
1.5.3. Emprego do SAB para extração de íons metálicos.....	17
2. Objetivos.....	21
2.1. Objetivo Geral	21
2.2. Objetivos Específicos	21
3. Parte Experimental.....	22
3.1. Instrumentação.....	22
3.2. Reagentes.....	23
3.3. Elaboração dos Sistemas Aquosos Bifásicos.....	23
3.3.1. Preparo e composição das soluções estoque.....	23
3.3.2. Preparo do SAB.....	24
3.3.3. Parâmetros otimizados na extração.....	26
3.3.3.1. Natureza e concentração dos extratantes.....	26
3.3.3.2. Ácido usado nos ajustes de pH.....	27
3.3.3.3. Influência do pH no meio reacional.....	27
3.3.3.4. Efeito da natureza do eletrólito.....	27
3.3.3.5. Efeito da natureza do polímero.....	27
3.3.3.6. Influência do comprimento da linha de amarração.....	28
3.3.3.7. Influência das massas das fases.....	28
3.4. Validação do método.....	28

4.	Resultados e Discussão	30
4.1.	Comportamento geral de extração dos íons metálicos em SAB.....	30
4.2.	Natureza dos ácidos usados no solvente.....	32
4.3.	Natureza e concentração dos extratantes.....	32
4.4.	Influência do pH do meio reacional.....	37
4.5.	Efeito da natureza do eletrólito.....	38
4.5.1.	Influência do cátion do eletrólito.....	39
4.5.2.	Influência do ânion do eletrólito.....	40
4.6.	Efeito da natureza do polímero.....	41
4.7.	Influência do comprimento da linha de amarração.....	42
4.8.	Especiação do arsênio inorgânico.....	43
4.9.	Influência da razão das massas das fases.....	44
4.10.	Validação do método.....	46
4.10.1.	Otimização das condições do HG-ICP-OES.....	46
4.10.2.	Figuras de mérito.....	49
5.	Conclusões.....	51
6.	Referências Bibliográficas	52

Índice de Figuras

Figura 1. Hiperpigmentação nas costas de uma pessoa exposta ao arsênio através do consumo de água contaminada [14].....	4
Figura 2. Mapa da localização das áreas de estudo de maior ocorrência de arsênio no Brasil [23].....	5
Figura 3. Componentes majoritários de um instrumento ICP-OES [31].....	10
Figura 4. Sistema de introdução de amostras para determinação de arsênio por HG - ICP-OES	10
Figura 5. Composições para um ponto de mistura do sistema aquoso bifásico L64 + sulfato de sódio + água, a 25 °C (2° CLA) [53], sendo ● a representação do copolímero e ● do sal (Rodrigues, 2012 - Adaptada).....	14
Figura 6. Diagrama de fase expresso em coordenadas retangulares de um SAB constituído por polímero e eletrólito [53].....	14
Figura 7. Diagrama de fase apresentando a variação do volume das fases em função das diferentes composições globais do SAB (Rodrigues, 2012 - Adaptada) [53].....	15
Figura 8. Modelo de formação de micelas: (a) Molécula de copolímero tribloco formado por blocos de óxido de propileno e óxido de etileno; (b) Sistema aquoso bifásico formado por copolímero tribloco e sal; (c) Complexo metálico ou extratante (Rodrigues, 2008 - Adaptada) [49].....	18
Figura 9. Extração de íons metálicos usando SCN^- , Γ e 1N2N como extratantes. (■) Zn(II), (*) Cd(II), (▲) Co(II), (▼) Fe(III), (●) Cu(II), (◆) Ni(II) (Rodrigues, 2008 - Adaptada) [49]	19

Figura 10. Porcentagem de extração dos íons Cu (II), Zn (II), Co (II) e Fe (II) no SAB formado por L35 +MgSO ₄ + H ₂ O no pH = 3,00 (Lemos, 2012 - Adaptada) [39]	19
Figura 11. Ensaios de um experimento de SAB composto por L64 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O, em pH = 6,00, no CLA igual a 41,83% m/m e utilizando APDC como extratante.....	25
Figura 12. Representação do procedimento experimental.....	26
Figura 13. Comportamento da porcentagem de extração do As(III) a medida que a quantidade de extratante aumenta no meio.....	30
Figura 14. Formação dos complexos de arsênio com o eletrólito e o extrante (interface) e partição do último para a FS do SAB.....	31
Figura 15. Efeito do tipo de ácido na extração de As(III) no SAB formado por L64 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O, em pH = 6,00, no CLA igual a 41,83% m/m	32
Figura 16. Efeito da natureza e concentração do extratante KI na extração de As(III) no SAB formado por PEO1500 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O, em pH = 1,00, no CLA igual a 40,10% m/m.....	33
Figura 17. Efeito da natureza e concentração do extratante APDC na extração de As(III) no SAB formado por PEO1500 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O, em pH = 3,00, no CLA igual a 40,10% m/m.....	33
Figura 18. Efeito da natureza e concentração dos extratantes na extração de As(III) no SAB formado por L64 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O, em pH = 6,00, no CLA igual a 41,83% m/m...34	
Figura 19. Representação da estrutura de um pseudopolicátion [53].....	35
Figura 20. Estruturas do extratantes: A) DDTP, B) APDC.....	36

Figura 21. Efeito dos valores de pH (1,5; 2,0; 2,5; e 3,0) na extração de As(III) e As(V) no SAB formado por L64 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O, no CLA igual a 41,83% m/m e utilizando o heptamolibdato de amônio como extratante.....	36
Figura 22. Efeito da influência do pH do meio reacional na extração de As(III) no SAB composto por L64 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O, CLA = 41,83% m/m, e na presença do extrator APDC.....	37
Figura 23. Efeito da natureza do cátion do eletrólito formador do SAB na extração de As(III) na presença do extrator APDC, em pH = 6,00.....	39
Figura 24. Efeito da natureza do ânion do eletrólito formador do SAB na extração de As(III) na presença do extrator APDC, e em pH = 6,00.....	40
Figura 25. Efeito da natureza do copolímero formador do SAB na extração de As(III) na presença do extrator APDC, e em pH = 6,00.....	41
Figura 26. Efeito do primeiro, segundo e terceiro CLA na extração de As(III) no SAB composto por L64 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O em pH = 6,00, na presença do extrator APDC.....	42
Figura 27. Extração de As(III) e As(V) no SAB composto por L64 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O em pH = 6,00, na presença do extrator APDC.....	43
Figura 28. Influência da razão das massas das FI e FS ($m_{FI}/m_{FS} = 1:1; 2:1; 4:1; 6:1; 8:1$ e $9:1$) na extração de As(III) no SAB composto por L64 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O em pH = 6,00, na presença do extratante APDC.....	44
Figura 29. Extração do complexo arsênio-APDC para a FS utilizando a razão mássica de 4:1 (FI:FS) no SAB composto por L64 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O, em pH = 6,00.....	45
Figura 30. Otimização das concentrações dos reagentes utilizados no HG-ICP-OES: A) NaBH ₄ (0,4; 0,55; 0,65 e 0,80% m/v); B) NaOH (0,1; 0,2 e 0,3 mol L ⁻¹); C) HCl (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mol L ⁻¹).....	47

Figura 31. Espectros de emissões correspondentes ao arsênio no comprimento de onda igual a 193,696 nm nas análises obtidas por HG-ICP-OES.....48

Índice de Tabelas

Tabela 1. Fórmulas estruturais de algumas espécies de arsênio (Barra, 2000 - Adaptada) [10].....	3
Tabela 2. Exemplos de alguns copolímeros tribloco usados comumente em SABs (Wohlfarth, 2013 - Adaptada) [64].....	17
Tabela 3. . Estudos empregando SAB compostos por copolímeros tribloco para a extração de íon metálicos utilizando agentes complexantes hidrofóbicos.....	20
Tabela 4. Parâmetros utilizados no ICP-OES no estudo de otimização.....	22
Tabela 5. Parâmetros utilizados no HG-ICP-OES no estudo de validação.....	22
Tabela 6. Concentrações em % (m/m) de polímero, sal e água na fase superior (FS) e fase inferior (FI) para os SABs estudados, a uma temperatura igual a 298,15 K.....	24
Tabela 7. Concentrações em % (m/m) de polímero, sal e água na fase superior (FS) e fase inferior (FI) para o SAB otimizado, L64 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O, em pH = 6,00 a uma temperatura de 298,15K [67].....	28
Tabela 8. Estruturas das moléculas de extratante, arsênio e eletrólito com a variação do pH das soluções estoque.....	38
Tabela 9. Figuras de mérito do método proposto para extração de As(III) analisadas por HG-ICP-OES.....	49

Abreviaturas

- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ANOVA - Análise de Variância
- ATPS - *Aqueous Two Phase System* (Sistema Aquoso Bifásico)
- CFI - Composição da Fase Inferior
- CFS - Composição da Fase Superior
- CG - Composição Global
- CPE - *Cloud Point Extraction* (Extração em Ponto Nuvem)
- CV - Coeficiente de Variação
- DAM - Drenagem Ácida da Mina
- DMA - Dimetilarsenato
- DPR - Desvio Padrão Relativo
- ELL - Extração Líquido-Líquido Convencional
- EO - Óxido de Etileno
- EPA - *Environmental Protection Agency* (Agência de Proteção Ambiental)
- ER - Erro relativo
- ETAAS - *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry* (Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica)
- FAAS - *Flame Absorption Atomic Spectroscopy* (Espectroscopia de Absorção Atômica por Chama)
- FI - Fase Inferior
- FS - Fase Superior
- GCI - *Green Chemistry Institute* (Instituto de Química Verde)
- GF-AAS - *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry* (Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite)
- HG-ICP-OES - *Hydride Generation-Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy* (Gerador de Hidretos - Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado)
- IARC - *International Agency for Research on Cancer* (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer)
- iAs - Arsênio Inorgânico

ICP-MS - *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado)

ICP-OES - *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy* (Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado)

IUPAC - *International Union of Pure and Applied Chemistry* (União Internacional de Química Pura e Aplicada)

LA - Linha de Amarração

LB - Linha Binodal

LC-ICP-MS - *Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* (Cromatografia Líquida - Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado)

LD - Limite de Detecção

LQ - Limite de Quantificação

MMA - Monometilarsenato

PAN - 1-(2-piridil-azo)-2-naftol

PEG - Polietileno Glicol

Pc - Ponto Crítico

PO - Óxido de Propileno

R - Recuperação

SAB - Sistema Aquoso Bifásico

SPE - *Solid-Phase Extraction* (Extração em Fase Sólida)

WHO - *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

1N2N - 1-nitroso-2-naftol

Resumo

No presente trabalho foi desenvolvido um método de extração líquido-líquido empregando sistemas aquosos bifásicos (SAB) para extração, especiação e determinação de arsênio inorgânico via Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES), empregando o extratante pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC). As espécies de arsênio inorgânico, As(III) e As(V), são consideradas tóxicas e carcinogênicas se em contato ou ingerido em teores maiores que os permitidos pela legislação. Uma técnica simples, capaz de extrair analitos em grande potencial e que não faz o uso de solventes orgânicos é o sistema aquoso bifásico. Neste estudo foi otimizado o valor do pH do meio reacional, a natureza do eletrólito e do polímero formador do sistema, o extratante e sua concentração, o comprimento da linha de amarração (CLA) e razão mássica entre as fases do SAB. Posteriormente, esse método de extração foi validado de acordo com guia de validação da ANVISA (Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003). Extrações satisfatórias de As(III), cerca de 98%, foram obtidos em um SAB composto por L64 + Na₂SO₄ + H₂O em pH = 6,00, no CLA igual a 33,55% m/m e usando o APDC em uma razão molar de 960 (APDC/As(III)). Nestas mesmas condições o As(V) não é extraído de forma satisfatória (%E = 18%), desta forma, o método desenvolvido possui grande potencial para a especiação de arsênio inorgânico. A validação foi realizada segundo as seguintes figuras de mérito: linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão e precisão e, foi determinada por HG-ICP-OES. Obteve-se uma linearidade de 0,66 – 80 µg kg⁻¹ de As(III) com um coeficiente de determinação igual a 0,9957. O LQ igual a 0,66 µg kg⁻¹ faz com que o método seja capaz de determinar as baixas concentrações exigidas pela legislação. O desvio padrão relativo (DPR) variou de 4,88 – 9,45%, sendo que o DPR interdias foi de 11,1%, também de acordo com os limites do guia de validação usado. E o método também se apresentou exato com um erro relativo (ER) variando de -7,44 – 9,90% e a recuperação de 92,6 – 110%.

Palavras chave: arsênio inorgânico, especiação, sistema aquoso bifásico.

Abstract

In the present work, a new method for the extraction, speciation and determination of inorganic arsenic was developed, using aqueous two-phase system (ATPS) technique with the extractant ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (APDC) and analysis through Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES). Inorganic arsenic species, As(III) and As(V), are considered toxic and carcinogenic, especially in contact or ingested at levels higher than those permitted by legislation. A simple and efficient approach for the extraction of several analytes without the use of organic solvents is the Aqueous Two-Phase System (ATPS) technique. In this study the following experimental conditions were optimized: pH of the reaction medium; nature of ATPS-forming electrolyte and the polymer; type and concentration of extractant; the tie-line length (TLL) and the mass ratio between the ATPS top and bottom phases. The highest percentage of extraction value (%E = 98%) was obtained for the ATPS composed of L64 + Na₂SO₄ + H₂O at pH = 6.00, in TLL equal to 33.55 % w/w and using APDC in a molar ratio (APDC/As(III)) of 960. Under these conditions As(V) was not extracted satisfactorily (%E = 18%) to ATPS top phase, showing the great potential of the system for the speciation of inorganic arsenic. Moreover, the method was validated according to Brazilian Sanitary Surveillance Agency validation guide (Resolution n° 899, from May 29, 2003). The following analytical parameters were determined: linear range, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), accuracy and precision. Linear range between 0.66-80 µg kg⁻¹ of As(III) with a coefficient of determination of 0.9957 was obtained. The method showed LOD and LOQ of 0.20 and 0.66 µg kg⁻¹, respectively, which are according to the limits required by legislation. The relative standard deviation (RSD) varied from 4.88% to 9.45%, and the RSD in different days was 11.1%, which were also according to the limits of the validation guide. In the accuracy studies, the method presented relative error rates ranging from -7.44% to 9.90% and recovery rates ranging from 92.6% to 110%.

Key words: inorganic arsenic, speciation, aqueous two-phase system.

1. Introdução

Os metais pesados são classificados como aqueles metais que possuem alto peso atômico (entre aproximadamente 63 e 200 g mol⁻¹), e são definidos como componentes químicos que, mesmo em baixas concentrações, são considerados altamente tóxicos, como por exemplo, o chumbo, o arsênio, o mercúrio, dentre outros. Além disso, não são biodegradáveis e, por isso, transmitem riscos para o ambiente e, conseqüentemente, para os seres humanos [1].

Esses riscos aumentam com a crescente industrialização, já que alguns metais pesados são liberados nos processos de mineração, queima de combustíveis fósseis, fabricação de plásticos, fertilizantes, tintas, baterias, produção de cimento, curtimento do couro, entre outras atividades [2].

1.1. Arsênio

Estudos indicam que o arsênio foi descoberto no século XIII pelo cientista Albertus Magnus, na Alemanha, a partir do aquecimento do sulfeto de arsênio (As₂S₃). Sua aplicação varia desde a utilização como conservante de couro e madeira (arsenato de cobre e cromo), como aditivo em ligas metálicas, na produção de inseticidas (arsenato de chumbo) e, recentemente, está sendo usado até mesmo no tratamento de pacientes com leucemia (trióxido de arsênio) [3].

O arsênio é um metaloide sólido que pode estar contido no solo, na água e no ar, proveniente de fontes naturais ou antropogênicas. Sendo liberado no ambiente por processos de intemperismo e processos de lixiviação de rochas vulcânicas, minerais e por águas geotérmicas, ou através de resíduos industriais, queima de combustíveis fósseis e, principalmente, pela atividade mineradora (especialmente da exploração do ouro) [4].

De acordo com Mello e Abrahão (1998), durante a exploração das minas de ouro ocorre a exposição dos minerais sulfetados, por exemplo, pirita (FeS₂) e arsenopirita (FeAsS), que se oxidam ao entrar em contato com a água e o oxigênio atmosférico, acidificando as águas de drenagem. Esse problema, conhecido como Drenagem Ácida da Mina (DAM), faz com que ocorra a dissolução dos metais (As, Al, Mn, Cu, Zn, Pb, entre outros) e, devido ao baixo pH dessas águas, ocorre também a solubilização desses metais

que podem ser posteriormente absorvidos pelas plantas ou atingir os lençóis freáticos [5]. A reação seguinte (Eq. 1) apresenta a decomposição da arsenopirita (FeAsS):



O arsênio pode ser encontrado no ambiente em quatro estados de oxidação diferentes: -III, 0, +III, +V, tanto nas formas orgânicas quanto inorgânicas, e os efeitos tóxicos dessas espécies estão relacionados aos estados de oxidação. As espécies inorgânicas, arsenito (As(III)) e arsenato (As(V)), são consideradas mais tóxicas que as espécies orgânicas, como por exemplo: monometilarsenato (MMA(V)), dimetilarsenato (DMA(V)), arsenocolina (AsC) e arsenobetaína (AsB), sendo as duas últimas espécies consideradas não tóxicas. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*Environmental Protection Agency* – EPA) [6] e também a Agência Internacional de Investigação do Câncer (*International Agency for Research on Cancer* – IARC) classificam as espécies de arsênios inorgânicos como carcinogênicas para humanos [7,8]. E entre as espécies inorgânicas, o arsenito é considerado mais solúvel, móvel e, por isso, mais tóxico (cerca de 60 vezes) que o arsenato [5,9]. A Tabela 1 exhibe as principais espécies de arsênio encontradas no meio.

Tabela 1. Fórmulas estruturais de algumas espécies de arsênio (Barra, 2000 - Adaptada) [10].

Compostos	Fórmulas estruturais	pK _a
Ácido arsenioso As (III)	O = As – OH	9,3
Ácido arsênico As (V)	OH	2,3
	O = As – OH	6,9
	OH	11,4
Ácido Monometilarsênico MMAA (V)	OH	3,6
	O = As – OH	8,2
	CH ₃	
Ácido Dimetilarsínico DMAA (V)	CH ₃	1,6
	O = As – OH	6,2
	CH ₃	
Arsenobetaina (AsB)	CH ₃ CH ₃ – As – CH ₂ – COOH CH ₃	4,7
Arsenocolina (AsC)	CH ₃ CH ₃ – As – CH ₂ – CH ₂ – OH CH ₃	-

Devido a essa alta toxicidade, a ingestão (de alimentos ou de água contaminados, de forma direta ou indireta), inalação ou o contato dérmico com o arsênio podem causar, entre outras consequências: lesões na pele, doenças cardiovasculares, efeitos hematológicos, distúrbios neurológicos, câncer de pulmão, bexiga, rins e fígado [4,11].

O arsênio após ser absorvido pelo corpo humano é distribuído pelo sangue, acumula-se no fígado, rins e pulmão e, posteriormente, nos tecidos. Um dos órgãos mais afetados pela contaminação por arsênio é a pele, onde esse pode gerar hiperpigmentação (Figura 1) e hiperqueratose (produção de excesso de proteínas, como a queratina, que causam endurecimento de pele) [12,13].

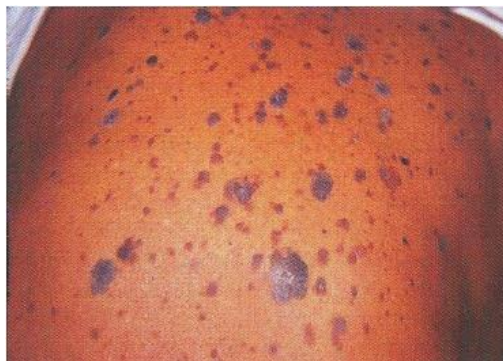


Figura 1. Hiperpigmentação nas costas de uma pessoa exposta ao arsênio através do consumo de água contaminada [14].

A determinação da quantidade de arsênio no corpo humano pode ser realizada através da medição de arsênio em cabelos ou unhas, no sangue e na urina. Porém, quando a exposição ao arsênio é mais recente, a quantificação é realizada por análises em amostras de urina. Essa amostra geralmente sofre um processo de digestão e posterior diluição para análises de arsênio [15]. A Agência Ambiental Federal da Alemanha classifica concentrações de arsênio urinário superiores a $40 \mu\text{g L}^{-1}$ como níveis elevados, com possíveis efeitos na saúde humana em longo prazo [16].

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece limites máximos de, por exemplo: $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ de arsênio total em leguminosas, $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$ em peixes (crus, refrigerados ou congelados) e de $0,30 \text{ mg kg}^{-1}$ em arroz; e a Portaria nº 2.914 do Ministério da Saúde estabelece um teor máximo de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ de arsênio total em água para consumo humano [17,18]. Estando esse valor máximo permitido em água de acordo com a Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization – WHO*) [19] e com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos [20].

1.2. Revisão da literatura

Estudos mostram relatos de países em que o teor de arsênio encontrado em água para consumo humano e alimentos foi superior ao valor máximo permitido pelas legislações vigentes, contaminando várias pessoas.

Por exemplo, em Bangladesh no ano de 1993 um desastre, comparado em escala ao de Chernobyl em 1986, ocorreu por contaminação de arsênio. A origem dessa contaminação no país se deu através da ingestão de água de poços artesianos com arsênio a um nível superior a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ [21].

Na China, a principal contaminação por arsênio ocorreu pela ingestão de grãos de arroz contaminados. O que pode ser justificado pela eficiência desse grão em acumular arsênio e pelo fato da China ser o maior país em produção e consumo de arroz [22]. Na Índia, México, Estados Unidos, e alguns outros países também foram relatados casos de contaminação por arsênio, a maioria por ingestão de água contaminada.

No Brasil, a ocorrência de arsênio foi principalmente estudada nas regiões do Quadrilátero Ferrífero (Minas Gerais), Vale do Ribeira (São Paulo) e Santana (Amapá), como pode ser visto na Figura 2, onde a liberação de arsênio no ambiente foi consideravelmente alta [23].

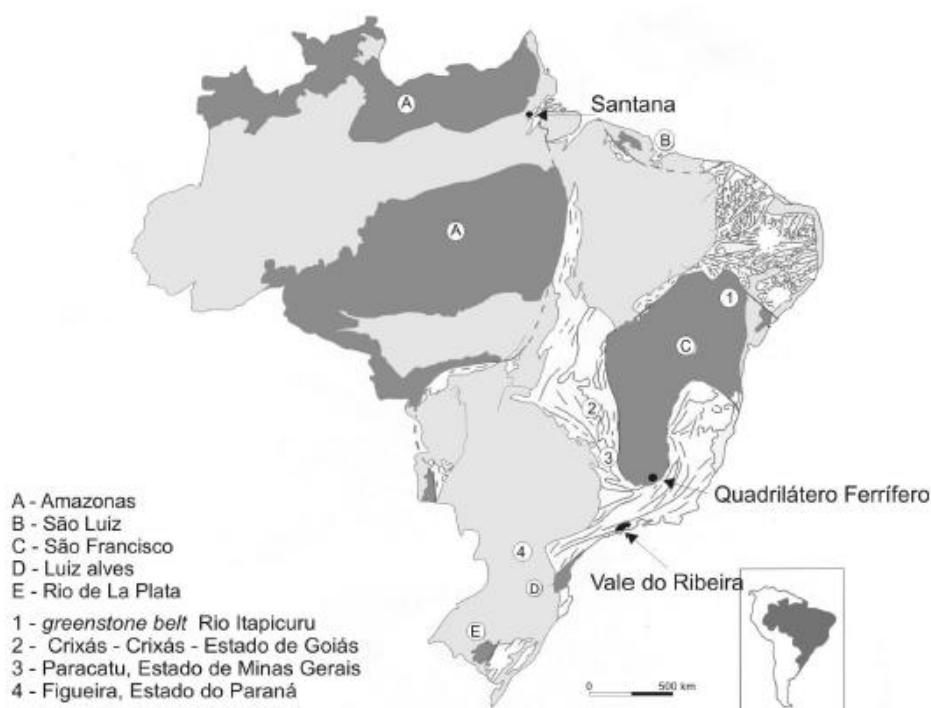


Figura 2. Mapa da localização das áreas de estudo de maior ocorrência de arsênio no Brasil [23].

No ano de 2000, Matschullat e colaboradores investigaram a exposição ao arsênio, e a outros elementos, nas cidades de Nova Lima e Santa Bárbara, Minas Gerais. O estudo consistiu parcialmente na análise de arsênio em urina de crianças. Dentre 126 amostras de urina coletadas, cerca de 20% apresentaram concentrações de arsênio acima de $40 \mu\text{g L}^{-1}$ [24]. Em 2006, Pereira realizou um estudo em Ouro Preto, Minas Gerais, em águas de antigas minas de ouro. As concentrações de arsênio nessas amostras de água variaram de 3,0 a $189 \mu\text{g L}^{-1}$ [25]. No Vale do Ribeira, São Paulo, Sakuma *et al.* (2010) estudaram a contaminação de crianças por arsênio na região de mineração de chumbo, onde a presença da arsenopirita é a principal fonte de arsênio. Concentrações médias de até $8,94 \mu\text{g L}^{-1}$ foram detectadas nas amostras de urina dessas crianças [26].

Diante desses relatos de contaminação e do conhecimento sobre a alta toxicidade do arsênio, é nítida a necessidade do estudo desse elemento, do seu comportamento e das possíveis maneiras de determinar suas espécies.

Continua sendo muito importante conhecer a concentração total de um elemento em uma matriz de interesse, porém atualmente cresce a necessidade em se obter a concentração de cada espécie química desse elemento [27]. Isso porque um elemento com diferentes estados de oxidação possui propriedades físicas, químicas e biológicas diferentes, o que faz com que as espécies químicas possuam biodisponibilidade, transporte e toxicidade também diferentes. Por exemplo, ao se fazer especiação do elemento arsênio pode-se encontrar a quantidade de arsênio inorgânico (iAs) presente e, assim conhecer a quantidade de arsênio tóxico na matriz, não apenas a quantidade total desse elemento [10].

Vários estudos têm sido desenvolvidos nessa perspectiva para determinação das espécies de arsênio. Em 2005, Bruno e colaboradores estudaram a especiação de arsênio inorgânico total e As(V) em amostras de arroz, empregando a extração por ponto nuvem (*Cloud Point Extraction* – CPE) como técnica de separação e pré-concentração. Para realizar a CPE, os autores misturaram às alíquotas de solução padrão de As(V) ou à amostras enriquecidas: ácido sulfúrico, o extrator molibdato de amônio e o ácido arcórbico. Subsequentemente a essa mistura, adicionaram o surfactante Triton X-114 e uma solução de cloreto de sódio (NaCl), para então retirar a fase sobrenadante do sistema formado e analisá-la no Espectrômetro de absorção atômica eletrotérmica (*Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry* – ETAAS). Os grãos de arroz foram triturados, homogeneizados e passados por peneiras. E para a otimização das extrações

foi realizado um planejamento fatorial onde as condições variáveis foram: valores de pH, sendo o pH igual a 1,00 o melhor para extração de As(V); a concentração de molibdato de amônio, e os resultados mostraram que uma maior concentração desse agente extrator também gera uma maior eficiência de extração do As(V); a concentração de NaCl; de Triton X-114; e de ácido ascórbico. Como resultados encontrados, a recuperação obtida de As(V) nas amostras de arroz enriquecidas foi de 90,8 a 113,1%, e a quantificação de arsênio total foi de $0,047 \pm 0,009 \mu\text{g g}^{-1}$, um bom resultado se comparado ao valor do material certificado, $0,049 \pm 0,009 \mu\text{g g}^{-1}$. Posteriormente, esse método foi aplicado a amostras reais. [28].

Em 2013, o sistema aquoso bifásico foi utilizado pela primeira vez como técnica de extração para especiação de arsênio inorgânico. Essas espécies foram convertidas em azuis de molibdênio que são absorvidos por PVA (poli álcool vinílico) e, por isso, foram então utilizadas na especiação de nitrito e nitrato em solução aquosa. Para a especiação do arsênio inorgânico especificamente, Samadar e Sem converteram primeiramente os sais de As(V) e As(III) em complexos de azul de molibdênio, respectivamente: $[\text{As}^{\text{V}}\text{Mo}_4^{\text{V}}\text{Mo}_8^{\text{VI}}\text{O}_{40}]^{7-}$ e $[\text{As}^{\text{III}}\text{Mo}_4^{\text{V}}\text{Mo}_8^{\text{VI}}\text{O}_{40}]^{9-}$. Eles utilizaram dois sistemas bifásicos constituídos de PEG 4000 (polietileno glicol – 50% m/m) e sulfato de sódio (1 mol L^{-1}), e outro formado por PEG 4000 (50% m/m) e citrato de sódio (1 mol L^{-1}), em $\text{pH} = 6,00$ para estudar a extração desses complexos que foram determinados por espectrometria de absorção molecular no UV–Visível. Através da porcentagem de extração desses para a fase rica em polímero, eles perceberam que ao utilizar sulfato de sódio ambos foram extraídos para a fase polimérica. Porém, ao utilizar o citrato de sódio, o complexo formado por As(III) não foi extraído, enquanto o complexo de As(V) foi extraído em torno de 60%, o que pode ser útil para a separação das espécies de arsênio inorgânico de acordo com os autores. Posteriormente, eles realizaram estudos de cinética com esses complexos para observar o decaimento na absorbância desses em contato com os íons nitrato e nitrito para então a avaliação da especiação desses íons [29].

Mais recentemente, em 2014, Ariane e colaboradores relataram uma pesquisa focada na quantificação de espécies de arsênio em frutos do mar, sendo que a especiação foi realizada via cromatografia líquida (*Liquid Chromatography* – LC) e a detecção através do ICP-MS (LC-ICP-MS). A quantidade de arsênio total em amostras de frutos do mar foi determinada após a digestão dessas por micro-ondas. Essa digestão foi realizada adicionando ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio às alíquotas das amostras. Para a extração de espécies de arsênio foi adicionado uma solução de ácido

nítrico (0,2% m/v) e uma solução de peróxido de hidrogênio (1% m/v). Esse método de extração oxida o As(III) a As(V), mas sem converter as espécies orgânicas em inorgânicas. Portanto, as espécies inorgânicas de arsênio foram quantificadas como As(V). Os resultados das análises da quantificação de arsênio total mostraram que não houve diferença significativa entre os valores analisados com os valores certificados correspondentes. A eficiência de extração entre 73% e 104% mostra que a digestão foi eficaz para extração de espécies de As de frutos do mar. E uma etapa de enriquecimento de amostras de frutos do mar com soluções padrão de As(III) e As(V) também foi realizada, tendo em vista a alta toxicidade das espécies de arsênios inorgânicos. Foi realizada a oxidação de As(III) como anteriormente, logo a determinação das espécies de As no LC-ICP-MS também se deu pelo As(V), e de forma eficaz, com valores de recuperações variando de 100% a 106%. Analisando todas as espécies de As estudadas, foi concluído pelos autores que a espécie dominante nos frutos do mar dessa pesquisa, é a arsenobetaina, a qual é considerada não tóxica [30].

Nesse mesmo ano, Kenta *et al.* publicaram seu estudo sobre especiação de arsênio inorgânico em água potável por Espectrometria de fluorescência de Raios-X (*X-ray Fluorescence* – XRF) a partir da pré-concentração em discos de extração de fase sólida (*Solid-Phase Extraction* – SPE). A pré-concentração de As(III) e As(V) foi realizada em um filtro hidrofílico de politetrafluoroetileno (PTFE) e em um de troca catiônica de Zr e Ca, respectivamente. Primeiramente, as amostras de água foram passadas por um disco quelante e depois os analitos foram eluídos. O pH do filtrado foi então ajustado para 1,00 e a solução do extratante APDC foi adicionada para formação do complexo As(III)-PDC. Posteriormente, essa solução foi passada pelos filtros para separação do As(III) e As(V). E o conteúdo desses filtros após tratamento correto, foi analisado por XRF. Esse método foi aplicado a amostras de água que foram enriquecidas com As(III) e As(V) e a porcentagem de recuperação foi de 98% a 104%. Para amostras de água coletadas de nascentes e de poços no Japão, os valores das concentrações totais (As(III) + As(V)) de arsênio encontradas e determinadas em todos os locais estudados foi menor que o valor exigido pela WHO, de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ [31].

1.3. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES)

Nos anos 60, Velmer Fassel e Stanley Greenfield desenvolveram o primeiro espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Nesse tempo, a principal técnica analítica de espectrometria atômica utilizada era a absorção atômica e emissão por arco e centelha [32,33]. Entretanto, somente no ano de 1975 o primeiro ICP-OES foi introduzido no mercado e, posteriormente, em 1983, o espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) foi introduzido comercialmente como outra técnica de análise [32].

Para escolher uma técnica de análise, os critérios devem ser baseados no tipo de amostra, no analito de interesse, nos parâmetros necessários para obtenção de bons resultados, dentre outros. Em geral, é preciso conhecer as vantagens e os recursos de cada instrumento e relacioná-los com as necessidades de seu estudo.

O ICP-OES possui várias vantagens, como: alta sensibilidade (na ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$), ampla faixa de trabalho, estabilidade durante as análises, baixos limites de detecção, é uma técnica multielementar, quase não possui interferências químicas devido à alta temperatura do plasma, dentre outras [32,33]. Como desvantagens o ICP-OES não é totalmente tolerante a solventes orgânicos, já que os tubos de quartzo podem ser entupidos por depósitos de carbono [34] e, possui um custo elevado quando comparado ao espectrômetro de absorção atômica.

A amostra, geralmente na sua forma líquida, ao ser analisada em um ICP-OES é primeiramente bombeada para um nebulizador para a conversão da amostra em aerossol. O aerossol então é levado para uma câmara de nebulização onde esse se torna mais homogêneo, e posteriormente segue para o plasma onde é atomizado [32,33]. O sinal gerado (energia emitida) é então, transformado em informação no processador de sinal (Figura 3) [34].

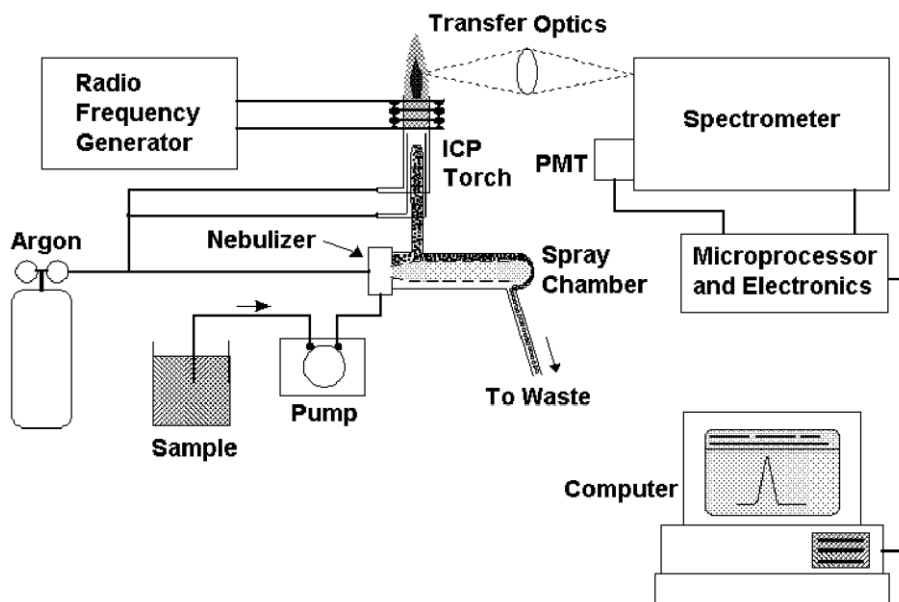


Figura 3. Componentes majoritários do instrumento de ICP-OES [32].

Ao utilizar esse instrumento acoplado a um gerador de hidretos (HG-ICP-OES) a introdução da amostra é realizada na forma gasosa (hidretos voláteis), o que aumenta a eficiência do transporte do analito até a tocha do plasma. Como consequência, há uma diminuição nos limites de detecção e um ganho de seletividade, pois apenas alguns elementos geram hidretos (Figura 4) [35]. Ao utilizar essa forma de introdução de amostras, é necessário a utilização de reagentes (como o redutor borohidreto de sódio – NaBH_4 , estabilizado em solução de hidróxido de sódio – NaOH , e o ácido clorídrico – HCl) que irão reduzir o analito na sua forma menos oxidativa, por exemplo, o As(III) a arsina (AsH_3).

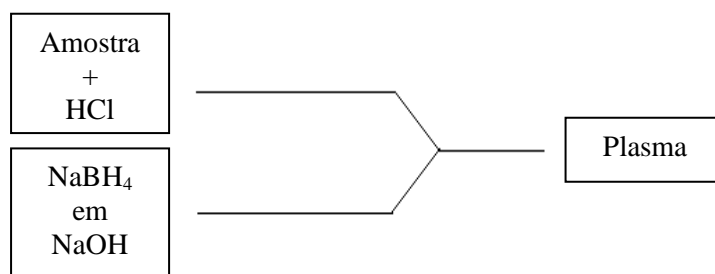
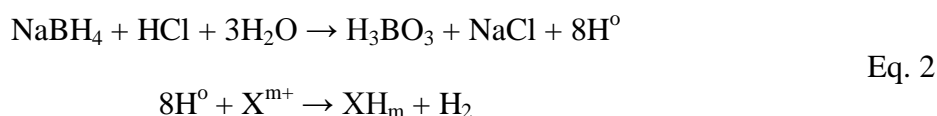


Figura 4. Sistema de introdução de amostras para determinação de arsênio por HG- ICP-OES.

A formação de hidrogênio e, conseqüentemente, a redução do analito ocorre da seguinte maneira (Eq. 2) [36]:



Sendo X o analito a ser reduzido no instrumento.

Para realizar análises em um instrumento como o ICP-OES o preparo da amostra pode variar de uma simples dissolução em um solvente adequado a uma extensa etapa de procedimentos [33]. Diante dos diversos processos utilizados no preparo de amostras, depara-se com técnicas que de alguma forma agridem o meio ambiente. Porém sabe-se da importância em buscar alternativas que sejam sustentáveis, que não infringam os princípios da Química Verde, mas que ao mesmo tempo sejam capazes de cumprir o escopo da análise.

1.4. Química Verde

É bastante reconhecido que há uma preocupação global em desenvolver processos que sejam ambientalmente seguros, que sigam os princípios da Química Verde. Esse termo, “Química Verde”, foi criado pelo professor Paul Anastas da EPA em 1993. Em 1997 foi criado o Instituto de Química Verde (*Green Chemistry Institute – GCI*) e no ano de 2001 a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) aprovou a criação de um subcomitê em “Green Chemistry” [37], o que mostra que este tópico é um assunto considerado relativamente recente e extremamente relevante.

Processos que seguem esses princípios utilizam solventes mais seguros, matérias primas de fontes renováveis, evitam formação de derivados, buscam a eficiência de energia, a economia de átomos, realizam análises em tempo real, dentre vários outros exemplos para se enquadrarem nessa perspectiva mais sustentável [37,38].

Uma alternativa às técnicas de extração convencionais que não seguem a maioria desses princípios citados, já que utilizam grandes quantidades de solventes tóxicos é o Sistema Aquoso Bifásico (SAB).

1.5. Sistema Aquoso Bifásico (SAB)

O Sistema Aquoso Bifásico (SAB ou ATPS – *Aqueous Two Phase System*) é uma técnica de extração líquido-líquido que pode substituir a técnica de extração líquido-líquido convencional (ELL), por ser simples e por seguir alguns princípios da Química Verde [39]. Como, por exemplo, ser um sistema composto majoritariamente por água, além de conter outros compostos (polímeros e sais), os quais apresentam baixa toxicidade e, em alguns casos, podem ser biodegradáveis [40].

Além dessas vantagens já citadas, o SAB apresenta: um meio adequado para a preservação da atividade biológica de biopartículas durante a extração, já que é composto majoritariamente por água [41]; baixa tensão superficial, o que beneficia o processo de difusão de compostos através da interface [42]; possibilidade de aplicação em larga escala, já que o tempo da separação das fases é geralmente rápido [43]; e capacidade de extrair tanto espécies carregadas quanto neutras [44], diferentemente da ELL convencional, onde apenas as espécies neutras são extraídas para fase orgânica.

É conveniente que esse sistema apresentado seja também de baixo custo, para que possa competir comercialmente com a ELL convencional. Os reagentes utilizados, como: polímeros, sais e extratantes são de fácil aquisição e alguns já são bastante utilizados em processos industriais e são utilizados em baixas concentrações, o que diminui ainda mais o custo dessa extração.

1.5.1. Breve Histórico

Em 1896, Beijerinck descobriu o Sistema Aquoso Bifásico (SAB) ao misturar soluções aquosas de gelatina e amido, ou de gelatina e ágar e perceber que, sob determinada temperatura e concentração, havia a formação de um sistema turvo e, que esse sistema se separava em duas fases após o repouso. Percebeu também que a fase mais densa (fase inferior) era rica em ágar ou amido e, que a fase de menor densidade (fase superior) era rica em gelatina [45,46].

Albertsson, em 1956, mostrou que o SAB se aplicava também na partição/purificação de biopartículas. Devido à água, componente majoritário desse sistema, o SAB se assemelha ao meio celular e, portanto, foi possível a extração por exemplo, de proteínas sem que houvesse desnaturação e, conseqüentemente, perda da

atividade biológica dessas biopartículas, ao contrário de sistemas bifásicos baseados em solventes orgânicos e água [42].

O primeiro estudo sobre a utilização do SAB para extração de íons metálicos foi publicado em 1984 por Zvarova e colaboradores [47]. A partir do mesmo, e dos estudos de Rogers (1993) onde se confirmou a influência de parâmetros na extração de metais, como: composição do sistema, temperatura e natureza dos polímeros e eletrólitos, a utilização do SAB aumentou consideravelmente [48].

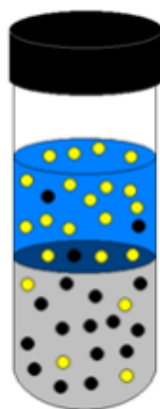
Entretanto, o uso do Sistema Aquoso Bifásico era restringido devido a necessidade do uso de agentes complexantes hidrofílicos. Porém, Rodrigues e colaboradores em 2008 comprovaram que ao utilizar copolímeros triblocos (moléculas com caráter anfifílico) era possível a extração de íons metálicos mesmo empregando agentes complexantes insolúveis em água, como o 1-nitroso-2-naftol (1N2N) [49]. Isso porque a presença dos copolímeros triblocos, em condições específicas de temperatura, pressão e composição, promovia a formação de micelas: agregados caracterizados por uma coroa hidrofílica e um núcleo hidrofóbico, no qual é possível solubilizar espécies de baixa solubilidade em água. Em consequência deste trabalho houve um grande avanço na utilização do SAB para a extração de íons metálicos, pois estes são extraídos geralmente sob a forma de complexos hidrofóbicos.

1.5.2. Princípios e Propriedades do SAB

Os SABs são formados por duas fases heterogêneas compostas por soluções aquosas de dois polímeros distintos [50]; um polímero e um eletrólito [51]; ou dois tipos de eletrólitos fisicamente incompatíveis [52]. Em um sistema formado por polímero e eletrólito, como o sistema da Figura 5 (L64 + Na₂SO₄ + H₂O), a fase superior (FS) é rica em polímero e a fase inferior (FI) é rica em eletrólito [53,54]. Contudo, já se conhecem sistemas aquosos bifásicos onde as composições das fases superior e inferior são invertidas. Ou seja, o sistema formado, por exemplo, pelo copolímero tribloco F38 e pelo sal carbamato de amônio possui sua fase superior rica em eletrólito e a fase inferior rica em copolímero, assim como sistemas formados por F68 e carbonato de sódio em determinadas condições [55,56]. A origem deste comportamento ainda é desconhecida.

Composição Global:

$$C_{L64} = 21,14\% \text{ (m/m)}$$
$$C_{Na_2SO_4} = 5,92\% \text{ (m/m)}$$
$$C_{H_2O} = 72,94\% \text{ (m/m)}$$



Fase Superior:

$$C_{L64} = 41,73\% \text{ (m/m)}$$
$$C_{Na_2SO_4} = 2,23\% \text{ (m/m)}$$
$$C_{H_2O} = 56,04\% \text{ (m/m)}$$

Fase Inferior:

$$C_{L64} = 0,55\% \text{ (m/m)}$$
$$C_{Na_2SO_4} = 9,60\% \text{ (m/m)}$$
$$C_{H_2O} = 89,85\% \text{ (m/m)}$$

Figura 5. Composições para um ponto de mistura do sistema aquoso bifásico L64 + sulfato de sódio + água, a 25 °C (2° CLA) [53], sendo ● a representação do copolímero e ● do sal (Rodrigues, 2012 - Adaptada).

Para determinar a composição química do sistema aquoso bifásico, em equilíbrio termodinâmico, é necessário utilizar um diagrama de fases [53]. Esse diagrama (um gráfico de forma retangular) informa a concentração do eletrólito do sistema no eixo das abscissas e a concentração do polímero no eixo das ordenadas, sendo essas concentrações expressas em % (m/m), como apresentado na Figura 6.

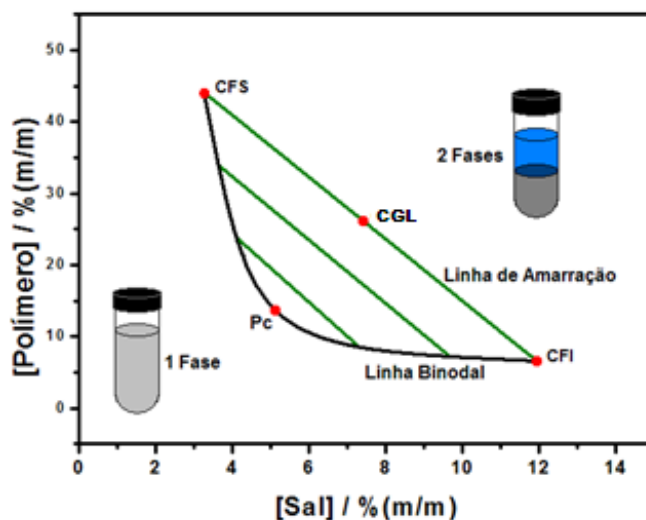


Figura 6. Diagrama de fase expresso em coordenadas retangulares de um SAB constituído por polímero e eletrólito [53].

É possível obter a partir do diagrama de fases informações sobre as características do sistema, como as composições globais (CG), as quais irão gerar sistemas com uma ou duas fases dependendo da proporção de polímero, sal e água; a composição da fase superior (CFS); a composição da fase inferior (CFI); e o ponto crítico (Pc). A linha que separa a região onde o sistema se apresenta com uma ou duas fases, é chamada linha binodal (LB). Os sistemas cujas composições globais se encontram acima da linha binodal, apresentam duas fases imiscíveis e aqueles com composições globais abaixo desta linha, se apresentam como sistemas monofásicos [53].

A linha binodal é obtida, usualmente, a partir de uma titulação turbidimétrica [57], onde os pontos de mistura são encontrados acrescentando-se o eletrólito ao polímero concentrado até a visualização de turbidez do sistema. Como esse procedimento engloba medidas realizadas fora do equilíbrio termodinâmico, é obtida uma linha denominada pseudobinodal e, posteriormente determina-se a linha binodal. Portanto em cima da LB (uma região de desvio das composições do sistema) há um equilíbrio entre os pontos de mistura monofásicos e bifásicos. Conseqüentemente, a posição da linha binodal depende da natureza e da massa molar média do polímero, da natureza do eletrólito, temperatura, pressão e pH do meio [58].

Além dessas informações, o diagrama de fases (Figura 6) também apresenta retas que ligam pontos de mistura globais às suas composições (CFS e CFI), sendo essas retas chamadas de linhas de amarração (LA). Na Figura 7, esses pontos de mistura podem ser exemplificados pelos pontos A, B, C e D.

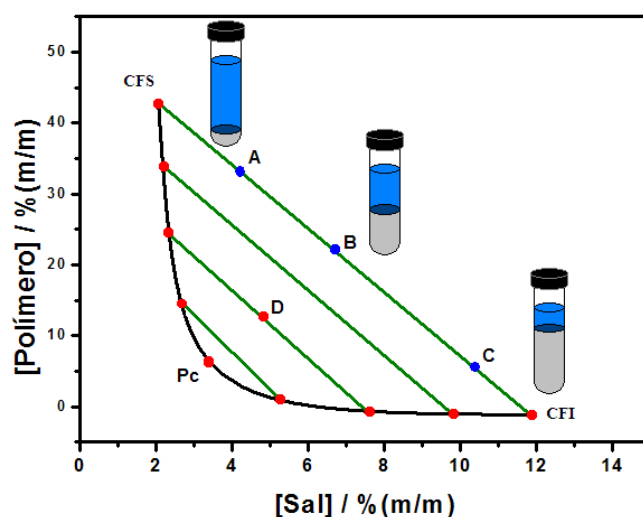


Figura 7. Diagrama de fase apresentando a variação do volume das fases em função das diferentes composições globais do SAB (Rodrigues, 2012 - Adaptada) [53].

Os exemplos de pontos de mistura A, B e C estão em uma mesma LA e, por isso, possuem a mesma composição de fase superior (CFS) e de fase inferior (CFI). Contudo, é notável que apresentam variações de volume de fase superior e inferior. Isso significa que em uma mesma LA as propriedades termodinâmicas intensivas (índice de refração, condutividade, densidade, composição, entre outras) de cada fase são constantes, enquanto as propriedades termodinâmicas extensivas (volume, capacidade calorífica, massa, entre outras) variam [53]. Por exemplo, o ponto C possui maior volume de fase inferior e assim sua composição global se aproxima mais da composição de fase inferior, e o contrário acontece no ponto A, onde sua composição global se aproxima mais da composição de fase superior, já que o volume da fase superior é maior que o volume da fase inferior. Logo, esses pontos de mistura podem ser utilizados com objetivos diferentes, por exemplo: o ponto C por possuir menor volume de FS pode ser usado para pré-concentração do analito em estudo, já o ponto A por possuir mais FS é capaz de extrair maior quantidade do analito sem que haja saturação dessa fase.

O ponto D, ainda na Figura 7, está em uma LA diferente dos demais pontos e por isso apresenta também propriedades termodinâmicas intensivas diferentes. A LA que o ponto D está localizado é inferior, logo sua composição global também é inferior, e conseqüentemente a diferença entre as CFS e CFI são menores. Isso ocorre à medida que a LA diminui até chegar ao Ponto crítico (Pc). Nesse ponto as propriedades termodinâmicas intensivas das fases se tornam tão semelhantes até o momento em que o sistema se torna monofásico.

Um parâmetro utilizado para definir essas diferenças entre as composições das fases superior e inferior citadas e, conseqüentemente expressar a diferença entre as propriedades termodinâmicas intensivas das fases é o comprimento da linha de amarração (CLA) [52]. Esse é calculado a partir dos valores de composição do polímero e sal, de cada fase, de acordo com a Equação 3:

$$CLA = [(C_P^{FS} - C_P^{FI})^2 + (C_S^{FS} - C_S^{FI})^2]^{1/2} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde C_P^S e C_P^I são as concentrações de polímero e C_S^S e C_S^I são as concentrações do sal em % (m/m) nas fases superior e inferior.

Quanto menor o valor da CLA mais próximas serão as características das fases do Pc, e quanto maior o valor da CLA maior será a diferença das propriedades termodinâmicas intensivas das fases. Logo, se o analito de interesse possui afinidade

apenas por uma das fases, é interessante se trabalhar em uma CLA maior para uma melhor extração do mesmo.

1.5.3. Emprego do SAB para a extração de íons metálicos

Os SABs já foram empregados em diversas metodologias analíticas para extração e/ou determinação de vários analitos, como: proteínas [59], DNA [60], nanopartículas [61], corantes [62] e metais [49]. Em 2008, a possibilidade de utilização deste sistema para a extração de íons metálicos cresceu significativamente devido ao uso de copolímeros triblocos [49].

Polímeros são substâncias de alta massa molecular constituídos de unidades repetitivas, que podem ser encontrados largamente na natureza ou sintetizados em escala laboratorial e industrial. Os polímeros que contêm apenas uma unidade monomérica são chamados de homopolímeros, por exemplo, o PEG (polietileno glicol), enquanto os que contêm duas ou mais unidades monoméricas diferentes são conhecidos como copolímeros, por exemplo, L64 (polietileno glicol e polipropileno glicol). De acordo com a disposição de seus monômeros, os copolímeros podem ser divididos em quatro classes: em bloco, alternado, estatístico, e enxertado. E os copolímeros em bloco podem ainda ser classificados em: dibloco, tribloco, multibloco e estrela [63].

Tabela 2. Exemplos de alguns copolímeros tribloco usados comumente em SABs (Wohlfarth, 2013 - Adaptada) [64].

Copolímeros Tribloco	Fórmula Molecular	Massa Molar (g mol^{-1})
F38	$(\text{EO})_{44}(\text{PO})_{17}(\text{EO})_{44}$	4800
F68	$(\text{EO})_{80}(\text{PO})_{30}(\text{EO})_{80}$	8400
L35	$(\text{EO})_{11}(\text{PO})_{16}(\text{EO})_{11}$	1900
L62	$(\text{EO})_6(\text{PO})_{30}(\text{EO})_6$	2100
L64	$(\text{EO})_{13}(\text{PO})_{30}(\text{EO})_{13}$	2900

Vários desses copolímeros em bloco possuem um caráter anfifílico, ou seja, possuem um bloco de caráter apolar (hidrofóbico) e outro de caráter polar (hidrofílico). Esses copolímeros sob condições específicas de temperatura, pressão e principalmente concentração, a qual deve estar acima da Concentração Micelar Crítica (CMC), se

agregam de formas variadas (esféricas, cilíndricas, lamelares e em disco) para formação de micelas. Esse agregado molecular, em solução aquosa, apresenta um núcleo hidrofóbico (parte interna) e a coroa hidrofílica (parte externa) que impossibilita, por exemplo, o contato direto entre o solvente e o bloco insolúvel [65,66].

O copolímero tribloco L64 ((EO)₁₃(PO)₃₀(EO)₁₃, de massa molar 2900 g mol⁻¹), por exemplo, possui um núcleo hidrofóbico constituído de PO (óxido de propileno) e uma coroa hidrofílica constituída de EO (óxido de etileno), como apresentado na Figura 8 [53].

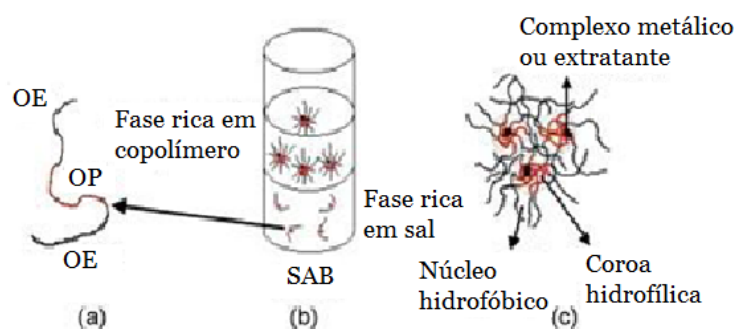


Figura 8. Modelo de formação de micelas: (a) Molécula de copolímero tribloco formado por blocos de óxido de propileno e óxido de etileno; (b) Sistema aquoso bifásico formado por copolímero tribloco e sal; (c) Complexo metálico ou extratante (Rodrigues, 2008 - Adaptada) [49].

A partir dessa formação de micelas é possível a solubilização de agentes extratantes hidrofóbicos, como os complexos metálicos, nos sistemas aquosos bifásicos pela parte hidrofóbica (núcleo) do copolímero em bloco [49].

Rodrigues e colaboradores (2008) utilizaram pela primeira vez um agente extrator insolúvel em água, o 1-nitroso-2-naftol (1N2N) para extração dos seguintes metais no SAB formado por L35 + Na₂SO₄ + H₂O a 298 K: Ni(II), Co(II), Fe(III), Zn(II), Cd(II) e Cu(II). Esses autores estudaram a extração desses metais diante do extratante 1N2N, e dos íons extratantes solúveis em água, SCN⁻ (tiocianato) e I⁻ (iodeto), além de outras variáveis do sistema, como o valor de pH do meio. Os resultados mostram que essa composição de SAB com copolímero tribloco na presença do extratante 1N2N pode ser usada para separar Co(II) de uma mistura contendo Fe(III), Zn(II) e Cd(II) [49], como pode ser observado na Figura 9.

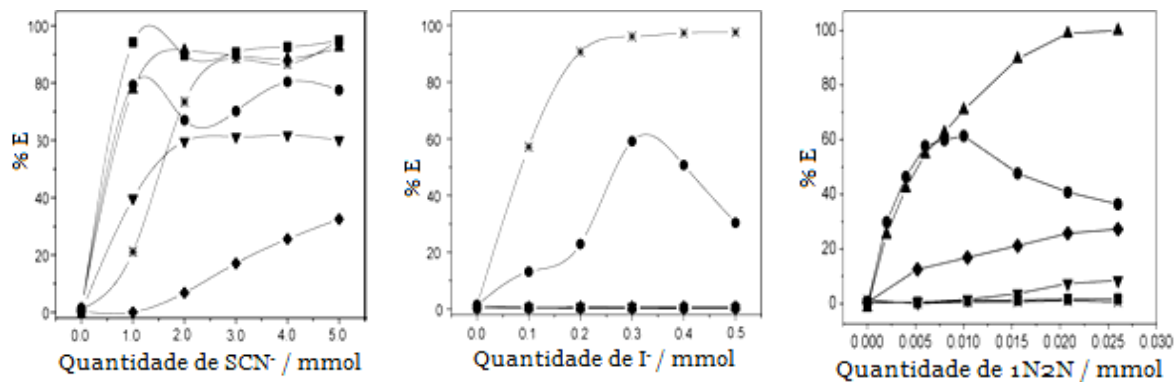


Figura 9. Extração de íons metálicos usando SCN⁻, I⁻ e 1N2N como extratantes. (■) Zn(II), (*) Cd(II), (▲) Co(II), (▼) Fe(III), (●) Cu(II), (◆) Ni(II) (Rodrigues, 2008 - Adaptada) [49].

Em 2012, Lemos e colaboradores estudaram o comportamento de extração do Cu(II) em um SAB formado pelo copolímero tribloco L35 + MgSO₄ + H₂O na presença do agente extrator 1-(2-piridil-azo)-2-naftol (PAN). Foram avaliados a natureza do eletrólito, a quantidade de extratante hidrofóbico, além do valor de pH do meio (Figura 10). Os resultados para recuperação de Cu(II) na amostra de um lixiviado de minério de cobre apresentaram uma recuperação de 90,4 ± 1,1% [39]. Esse resultado também comprova a possível extração de metais através de um sistema composto por copolímero tribloco e agente extratante hidrofóbico.

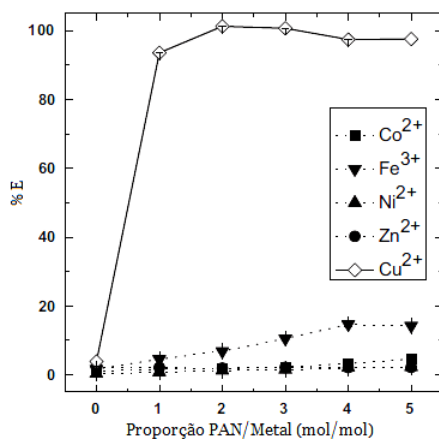


Figura 10. Porcentagem de extração dos íons Cu (II), Zn (II), Co (II) e Fe (II) no SAB formado por L35 + MgSO₄ + H₂O, em pH = 3,00 (Lemos, 2012 - Adaptada) [39].

Em um estudo mais recente, como o de Leite e colaboradores (2017), os autores desenvolveram um método hidrometalúrgico para a extração seletiva de cobre e cobalto de baterias íon-lítio. Foi avaliada a influência dos parâmetros do SAB, como: natureza do extratante, pH do meio reacional, eletrólito formador do sistema, o comprimento da linha de amarração e a razão mássica entre as fases. As condições que apresentaram melhor fator de separação entre os íons metálicos foram ao utilizar o extratante 1-(2-piridil-azo)-2-naftol (PAN), em pH = 6,00, no SAB composto por L64 + Na₂SO₄, no CLA = 50,29 % (m/m), e com a razão mássica igual a $m_{FS}/m_{FI} = 1$. Posteriormente, o método de extração foi aplicado a uma bateria íon-lítio e após cinco etapas de extrações sucessivas obteve-se um valor de fator de separação entre Cu(II) e Co(II) igual a $5,4 \times 10^5$ [67].

Vários outros exemplos são encontrados na literatura sobre SABs formados por copolímeros tribloco na presença de agentes extratantes hidrofóbicos com resultados bastante satisfatórios para extração de íons metálicos. Alguns desses estão representados na Tabela 3.

Tabela 3. Estudos empregando SAB compostos por copolímeros tribloco para a extração de íon metálicos utilizando agentes complexantes hidrofóbicos.

Metal	Extratante	%E	Referência
Cu(II)	PAN	85,0%	[68]
Zn(II)		2,7%	
Co(II)	1N2N	98,1%	[69]
Ni(II)		97,6%	
Cd(II)		66,4%	
Zn(II)	Ditizona	107%	[70]

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

O trabalho proposto tem como objetivo desenvolver um método verde para a extração, especiação e determinação de arsênio inorgânico empregando a técnica de extração dos Sistemas Aquosos Bifásicos (SABs).

2.2. Objetivos Específicos

Os objetivos específicos desse trabalho são:

- Estudar o comportamento de extração em SAB das espécies de As(III) (AsO_2^-) e As(V) (HAsO_4^{2-});
- Investigar a influência da natureza e a concentração dos diferentes agentes extratantes: iodeto de potássio (KI), pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC – $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$), dietil ditiofosfato de amônio (DDTP – $\text{C}_4\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{PS}_2$) e heptamolibdato de amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) sobre o comportamento da extração dos analitos;
- Avaliar o efeito do pH (2,0 até 11,0) do meio reacional sobre extração de arsênio inorgânico;
- Estudar a influência da composição do SAB: do polímero PEO1500, dos copolímeros tribloco L35 e L64 e dos sais sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), sulfato de lítio ($\text{Li}_2\text{SO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$), sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$), citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e tartarato de sódio ($\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\cdot 2\text{H}_2\text{O}$);
- Analisar a influência do comprimento da linha de amarração (CLA) do SAB;
- Estudar o efeito da razão das massas das fases sobre a etapa de pré-concentração do arsênio no SAB;
- Validar a metodologia já otimizada para determinação das espécies de arsênio estudadas de acordo com as figuras de mérito: linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão e exatidão.

3. Parte Experimental

3.1. Instrumentação

Durante a realização dos experimentos foi utilizado um pHmetro digital (Hanna, HI 2221), para a realização das medidas de pH da água deionizada utilizada no preparo das soluções estoque do SAB; uma balança analítica (Shimadzu, AUY 220), de incerteza $\pm 0,0001$ g; uma centrífuga (Excelsa II, FANEN) para acelerar a separação das fases; e também um banho termostático (Solab, SL 152) para o equilíbrio termodinâmico das amostras.

Os sinais analíticos foram obtidos através de um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Perkin Elmer, Optima 7300 DV) e com o mesmo acoplado a um gerador de hidretos (HG-ICP-OES), quando foi necessária a análise de níveis de concentração mais baixos. Os parâmetros utilizados em ambos os instrumentos seguem nas Tabelas 4 e 5:

Tabela 4. Parâmetros utilizados no ICP-OES no estudo de otimização.

Parâmetros	Condições
Modo de leitura	Axial
Linha de emissão	193,696 nm
Potência da radiofrequência	1,3 kW
Padrão Interno: Lutécio	1 mg L ⁻¹
Fluxo de nebulização	0,2 L min ⁻¹
Fluxo do plasma	15 L min ⁻¹
Fluxo do gás auxiliar	0,2 L min ⁻¹

Tabela 5. Parâmetros utilizados no HG-ICP-OES no estudo de validação.

Parâmetros	Condições
Linha de emissão	188,979 nm
Fluxo do plasma	17 L min ⁻¹
Fluxo de nebulização	0,8 L min ⁻¹
Potência do plasma	1,45 kW
Bomba peristáltica	1,00 mL min ⁻¹

3.2. Reagentes

Para os ajustes de pH das soluções estoque foram utilizados ácido clorídrico (HCl), e hidróxido de sódio (NaOH), adquiridos juntos à Vetec.

Para formação dos SABs estudados utilizou-se o polímero PEO1500 (fórmula molecular $\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n\text{H}$ e $\text{MM} = 1500 \text{ g mol}^{-1}$) obtido da Vetec, os copolímeros tribloco L64 (fórmula molecular $(\text{EO})_{13}(\text{PO})_{30}(\text{EO})_{13}$ e $\text{MM} = 2900 \text{ g mol}^{-1}$) e L35 (fórmula molecular $(\text{EO})_{11}(\text{PO})_{16}(\text{EO})_{11}$) e $\text{MM} = 1900 \text{ g mol}^{-1}$), fabricados pela Sigma-Aldrich. Os sais: sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), tartarato de sódio ($\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e sulfato de lítio ($\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) obtidos da Vetec, e o sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) fabricado pela Synth; e os extratantes: iodeto de potássio (KI) obtido pela Química Moderna, pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC – $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$) e dietil ditioposfato de amônio (DDTP – $\text{C}_4\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{PS}_2$) adquiridos pela Sigma-Aldrich, e heptamolibdato de amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) fornecido pela Merck.

O sal arsenito de sódio, NaAsO_2 , foi obtido da Sigma-Aldrich e o arsenato de sódio heptahidratado, $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, foi adquirida junto à Merck.

Em todos os experimentos foi utilizado água deionizada obtida no laboratório através do Ultrapore Water Simplicity UV (Millipore).

3.3. Elaboração dos Sistemas Aquosos Bifásicos

3.3.1. Preparo e composição das soluções estoque

Para obtenção dos SABs estudados, prepararam-se soluções estoque de polímero e sal. As concentrações dessas soluções foram escolhidas através de um CLA já determinado, e esse foi obtido através dos diagramas de fases encontrados na literatura (Tabela 6). Todos os diferentes SABs seguiram um valor de CLA próximo, com exceção do experimento em que o objetivo foi analisar o efeito do comprimento da linha de amarração na extração do arsênio. As massas do copolímero e sal utilizados eram pesadas de modo que a composição global fosse atingida no final do sistema.

Tabela 6. Concentrações em % (m/m) de polímero, sal e água na fase superior (FS) e fase inferior (FI) para os SABs estudados, a uma temperatura igual a 298,15 K.

Sistema	FS			FI			CLA (% m/m)
	$m_{\text{polímero}}$	m_{sal}	$m_{\text{água}}$	$m_{\text{polímero}}$	m_{sal}	$m_{\text{água}}$	
PEO1500 + Na₂SO₄ + H₂O [74]							
1	37,94	1,95	60,11	1,86	19,45	78,69	40,10
L64 + Na₂SO₄ + H₂O [71]							
2	41,73	2,23	56,05	0,55	9,60	89,85	41,83
L64 + Na₂C₄H₄O₆ + H₂O [72]							
3	43,03	4,01	52,96	2,70	12,86	84,44	41,28
L64 + Na₃C₆H₅O₇ + H₂O [72]							
4	42,99	2,84	54,17	1,37	11,72	86,91	42,56
L35 + Na₂SO₄ + H₂O [73]							
5	46,91	0,82	52,27	2,59	15,75	81,66	46,76
L64 + Li₂SO₄H₂O + H₂O [72]							
6	41,72	3,27	55,00	0,41	10,01	89,57	41,86
L64 + MgSO₄.7H₂O + H₂O [72]							
7	45,58	2,20	52,22	5,15	7,18	87,66	40,73

Ambas as soluções estoque foram preparadas em água deionizada. O pH da água foi ajustado conforme a necessidade, utilizando ácido clorídrico ou solução de hidróxido de sódio.

3.3.2. Preparo do SAB

Nas fases superior (solução estoque de polímero) e inferior (solução estoque de sal) do sistema foram acrescentadas o agente extrator e o arsênio, respectivamente, sendo que a quantidade de extratante foi variada e a concentração do arsênio em todos os experimentos de otimização foi igual a 30 mg kg⁻¹. Em tubos de ensaio de 15 mL, foram pesados 2,0000 g de cada fase em todos os experimentos, exceto naquele em que se variou a massa das fases para analisar sua influência na etapa de pré-concentração do analito. Todos os experimentos foram realizados em duplicata, sendo que em todos os diferentes ensaios foi preparado um branco (solução com ausência do analito).

Após o preparo dos SABs, eles foram agitados manualmente durante 3 minutos para que o extratante entrasse em contato com o arsênio e, então formasse o complexo.

Posteriormente, os ensaios foram centrifugados por 20 minutos a um rotação de 2500 rpm (rotações por minuto) para acelerar o processo de separação das fases superior e inferior e, por último foram colocados em um banho termostático, por 30 minutos a 25 °C, para o equilíbrio termodinâmico dos sistemas (Figura 11).



Figura 11. Ensaios de um experimento de SAB composto por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, em pH = 6,00, no CLA igual a 41,83% m/m e utilizando APDC como extratante.

Para realização da leitura dos sinais analíticos, foi necessária a diluição da FS para diminuir a viscosidade da mesma e ajustar o nível da concentração usado na ordem de leitura do ICP-OES. A diluição foi realizada em água deionizada depois que elas eram recolhidas dos tubos de ensaio com o auxílio de seringas. A curva analítica foi preparada em todos os experimentos a partir de uma solução aquosa do arsênio e, como solvente, foi utilizada uma solução de polímero na mesma concentração dos ensaios diluídos, já que essa medida pode evitar diferenças de viscosidades entre os padrões e os ensaios, o que minimiza possíveis problemas (interferências físicas) de diferenças do fluxo de nebulização no espectrômetro.

Os resultados foram analisados por meio da porcentagem de extração (%E) do analito da FI onde foi acrescentado, para a FS, onde está presente e complexado junto ao extratante. A porcentagem de extração do arsênio foi calculada a partir da seguinte equação (Eq. 4):

$$\% E = \frac{n^{FS}}{n^{Total}} \times 100 \quad \text{Eq. 4}$$

Onde n^{FS} é o número de mols do analito na fase superior e n^{Total} é o número de mols do analito no sistema.

Uma representação de todas as etapas do método, desde o preparo do SAB até as análises no ICP-OES, segue abaixo na Figura 12.

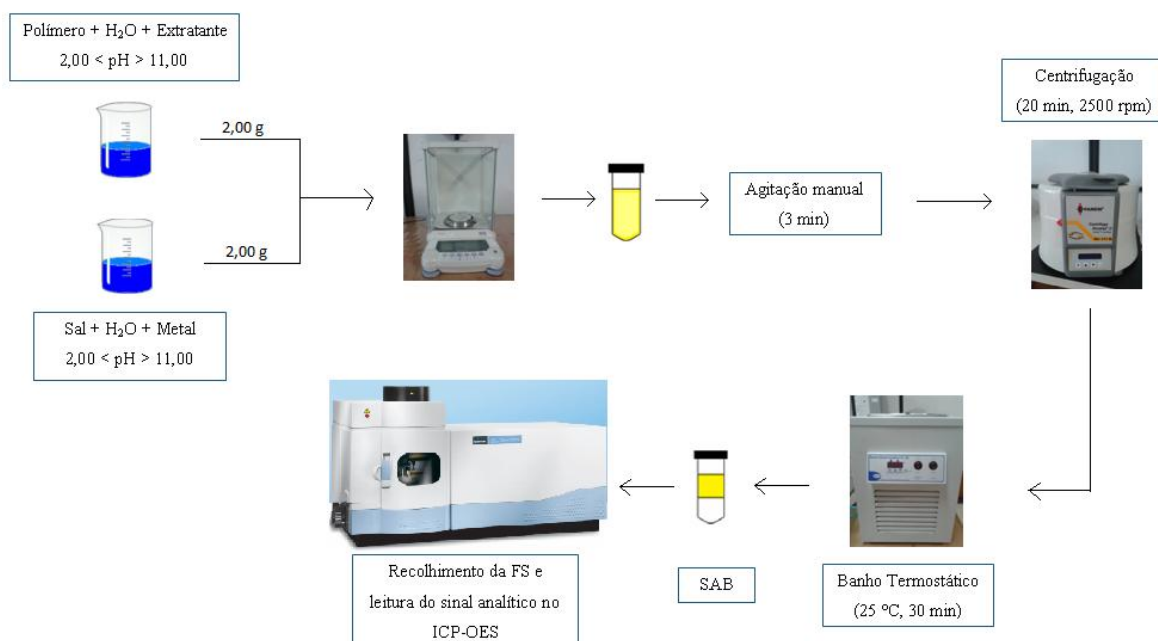


Figura 12. Representação do procedimento experimental geral.

3.3.3. Parâmetros otimizados na extração

Para obter condições ótimas de extração do As(III) e, posteriormente do As(V), alguns parâmetros que influenciam na partição do analito para a FS do SAB foram variados, como: pH do meio, a natureza do eletrólito e do polímero formador, o comprimento da linha de amarração do sistema e a natureza e concentração dos extratantes.

3.3.3.1. Natureza e concentração dos extratantes

Com a finalidade de determinar aquele que melhor complexa e extrai o arsenito, AsO_2^- , e/ou arsenato, HAsO_4^{2-} , da FI para a FS do SAB, foram avaliados quatro tipos de extratantes: KI, APCD, DDTP e heptamolíbato de amônio. O APDC e DDTP foram escolhidos por serem capazes de complexar apenas o As(III), e o último apenas o As(V) [75].

3.3.3.2. Ácido usado nos ajustes de pH

Durante os ajustes de pH das soluções estoque, ao utilizar um ácido oxidante como o ácido sulfúrico (H_2SO_4), há a possibilidade do As(III) ser oxidado a As(V) em solução [76], o que causaria uma diferença na extração de As(III). Para evitar que isso ocorra, o ácido clorídrico também foi avaliado ao se trabalhar em valores ácidos de pH.

3.3.3.3. Influência do pH no meio reacional

A influência do pH na extração do arsênio foi estudada com os seguintes valores ajustados: 2,00; 6,00; 8,00 e 11,00, no SAB formado por $\text{L64} + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$. Para isso, ajustou-se o pH da água deionizada utilizada no preparo das soluções estoque de polímero e sal com HCl ou solução de NaOH. O melhor resultado obtido a partir dessa variação de pH, foi utilizado para os posteriores experimentos de otimização.

3.3.3.4. Efeito da natureza do eletrólito

Para observar o efeito do eletrólito formador do SAB na extração de arsênio foram estudados diferentes sais: sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), sulfato de lítio ($\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e tartarato de sódio ($\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

3.3.3.5. Efeito da natureza do polímero

O efeito do polímero formador do SAB foi estudado utilizando dois copolímeros tribloco, L64 e L35, e o polímero PEO1500 nos seguintes sistemas, respectivamente: $\text{L64} + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$, $\text{L35} + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ e $\text{PEO1500} + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$.

3.3.3.6. Influência do comprimento da linha de amarração

Todos os experimentos realizados até essa etapa possuem SAB com valores de comprimento de linhas de amarração bem próximos para que as propriedades termodinâmicas intensivas sejam semelhantes, e não influenciem nos resultados de extração. O estudo da variação dos valores de CLA, iguais a 33,55, 41,83 e 47,82% m/m (Tabela 7) foi realizado após a otimização de todas as condições acima.

Tabela 7. Concentrações em % (m/m) de polímero, sal e água na fase superior (FS) e fase inferior (FI) para o SAB otimizado, L64 + Na₂SO₄ + H₂O, em pH = 6,00 a uma temperatura de 298,15K [71].

Sistema	FS			FI			CLA (% m/m)
	m _{polímero}	m _{sal}	m _{água}	m _{polímero}	m _{sal}	m _{água}	
L64 + Na₂SO₄ + H₂O							
1	34,31	3,10	62,59	1,21	8,58	90,20	33,55
2	41,73	2,23	56,05	0,55	9,60	89,85	41,83
3	47,49	1,76	50,75	0,47	10,46	89,08	47,82

3.3.3.7. Influência das massas das fases

Na etapa de pré-concentração do analito no sistema, foi avaliado a influência da razão entre massas da fase inferior e da fase superior do SAB na variação de intensidade dos sinais analíticos. Foram estudadas as seguintes razões (m_{FI}/m_{FS}): 1:1; 2:1; 4:1; 6:1; 8:1 e 9:1.

3.4. Validação do método

O método de extração de As(III) foi validado para os seguintes parâmetros de desempenho analítico: linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão e precisão conforme o guia de validação da ANVISA (Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003) [77].

A linearidade foi avaliada pela curva analítica com concentrações de As(III) que variaram de 5,0 - 80,0 µg kg⁻¹ (n = 24, oito pontos em triplicata). A relação matemática

entre o sinal (resposta) e a concentração do analito foi expressa pela equação da curva analítica e o seu coeficiente de determinação (R^2).

Para determinação do limite de detecção (LD) e do limite de quantificação (LQ), sete brancos foram preparados e esses limites foram calculados pelas expressões:

$$LD = 3 \frac{s}{m} \quad \text{Eq. 5}$$

$$LQ = 10 \frac{s}{m} \quad \text{Eq. 6}$$

Sendo s o desvio padrão obtido a partir das medidas dos brancos e m a inclinação da curva analítica.

A precisão foi expressa em termos de repetitividade e precisão intermediária (interdias) e, foi avaliada pelo desvio padrão relativo (DPR ou coeficiente de variação). Para isso, trabalhou-se com um $n = 24$ (quatro concentrações, em 6 replicatas cada). O DPR foi calculado através da seguinte equação (Eq. 7):

$$DPR(\%) = \frac{s}{\bar{X}} \quad \text{Eq. 7}$$

Onde s é a estimativa do desvio padrão das concentrações e \bar{x} é a média aritmética dos valores das concentrações.

A exatidão foi avaliada através do erro relativo (ER) de ensaios de recuperação ($n = 12$, quatro concentrações em triplicatas) e também foi calculada a porcentagem de recuperação (R) do analito pelo método, de acordo com as seguintes equações:

$$ER(\%) = \frac{\text{Valor obtido} - \text{Valor esperado}}{\text{Valor esperado}} \times 100 \quad \text{Eq. 8}$$

$$R(\%) = \frac{\text{Valor obtido}}{\text{Valor esperado}} \times 100 \quad \text{Eq. 9}$$

4. Resultados e Discussão

4.1. Comportamento geral de extração de íons metálicos em SAB

A Figura 13 apresenta uma tendência geral da extração de um analito contido em SAB (L64 + Na₂SO₄ + H₂O, pH = 6,00, CLA = 33,55% m/m) à medida que a concentração do extratante (APDC) aumenta no meio.

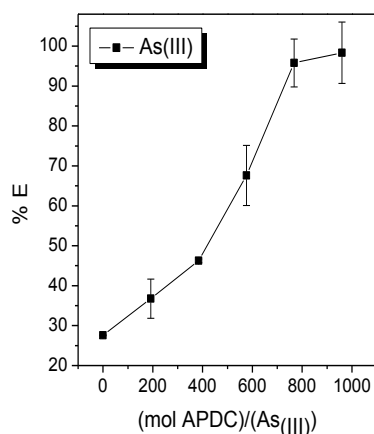


Figura 13. Comportamento da porcentagem de extração do As(III) a medida que a quantidade de extratante aumenta no meio.

Percebe-se pela Figura 13 que na ausência de extratante o analito fica preferencialmente na FI (%E < 30%) e, à medida que a quantidade de extratante aumenta a %E do analito para FS também aumenta, alcançando um valor próximo de 100% de extração.

O analito presente na FI do sistema permanece preferencialmente na mesma, caso a interação entre o eletrólito e íon gere um complexo termodinamicamente estável. Essa estabilidade é inversamente proporcional a %E do analito para a FS e o número de complexos entre eletrólito e íon diminui à medida que a concentração do extratante aumenta no meio.

O aumento da concentração do extratante faz com que o número de complexos formados com o íon metálico aumente e, conseqüentemente, a %E do mesmo seja maior. Isso ocorre devido ao caráter hidrofóbico do complexo formado, no caso, entre arsênio-APDC. Portanto, o complexo permanece preferencialmente na FS do sistema, onde o

copolímero forma micelas com núcleos hidrofóbicos em determinadas condições, e solubiliza melhor esse complexo.

Logo, a formação de um complexo no sistema aquoso bifásico entre o íon metálico e o extratante para posterior extração do mesmo na FS é regida principalmente por essa competição entre o eletrólito e o extratante pela interação com o analito. A Figura 14 apresenta um SAB constituído por polímero e sal, no qual o arsênio é o analito de interesse.

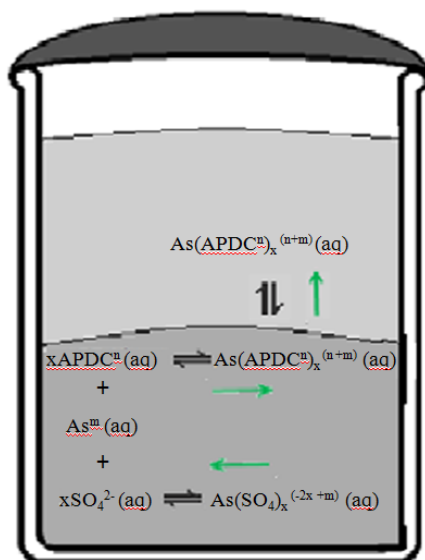


Figura 14. Formação dos complexos de arsênio com o eletrólito e o extrante (interface) e partição do último para a FS do SAB.

Através da Figura 14 observa-se a formação de ambos os complexos no SAB (As-APDC e As-eletrólito). A formação do complexo de arsênio e eletrólito ocorre na FI, onde ambos estão presentes, e a formação do complexo arsênio e extratante (APDC) ocorre na interface do sistema. Isso ocorre devido à localização do extratante na FS, porém o complexo formado é particionado para a FS do SAB onde o mesmo é melhor solubilizado devido a presença do copolímero.

Assim como a composição do SAB, os outros parâmetros formadores desse sistema também influenciam diretamente no comportamento de extração dos íons metálicos e, por isso, foram estudados separadamente.

4.2. Natureza dos ácidos usados no solvente

A Figura 15 apresenta o efeito da natureza dos ácidos (utilizados para regular o pH do meio) sobre o comportamento de extração de As(III) em SAB formado por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, em pH = 6,00, no CLA igual a 41,83% m/m.

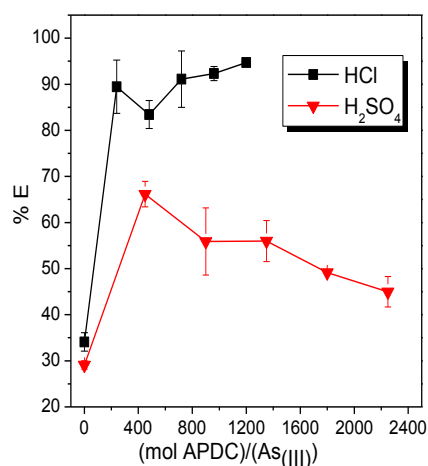


Figura 15. Efeito do tipo de ácido na extração de As(III) no SAB formado por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, em pH = 6,00, no CLA igual a 41,83% m/m.

Inicialmente, o ajuste de pH foi realizado com H₂SO₄, porém ao avaliar o uso do HCl percebeu-se que a porcentagem de extração do As(III) sofreu um aumento significativo, o que pode ser explicado pelo potencial oxidante do ácido sulfúrico (Figura 15). Em meio sulfúrico, o As(III) pode ser oxidado a As(V) e, como o APDC, extratante utilizado nesse estudo, não complexa o As(V) [75], o analito não é levado para a FS e, por esse motivo, a %E é menor quando comparada com um sistema cujo pH foi ajustado com HCl.

Portanto, todos os posteriores experimentos tiveram suas soluções estoque ajustadas com HCl em valores de pH ácidos.

4.3. Natureza e concentração dos extratantes

Como já foi discutido anteriormente, o complexo formado pelo extratante e o íon metálico é o responsável pelo aumento da porcentagem de extração do analito. O primeiro extratante estudado foi o iodeto de potássio (KI), no sistema formado por

PEO1500 + Na₂SO₄ + H₂O (CLA = 40,10% m/m) em pH = 1,00 (Figura 16). As proporções mol extratante/mol As(III) empregadas estão relacionadas à solubilidade máxima dos extratantes nas soluções estoque de polímeros ou copolímeros utilizados.

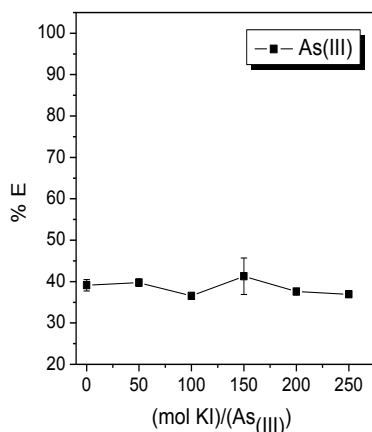


Figura 16. Efeito da natureza e concentração do extratante KI na extração de As(III) no SAB formado por PEO1500 + Na₂SO₄ + H₂O, em pH = 1,00, no CLA igual a 40,10% m/m.

Nesse sistema a %E não se modificou significativamente ao longo do aumento da quantidade de KI, quando comparada à %E na ausência do mesmo, sendo que a máxima extração obtida foi de aproximadamente 40%.

A partir desse resultado optou-se por mudar o tipo de extratante, utilizando ainda um SAB constituído pelo polímero PEO1500. O próximo sistema estudado foi formado por PEO1500 + Na₂SO₄ + H₂O (CLA = 40,10% m/m) em pH = 3,00 e utilizando o extratante pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC) (Figura 17).

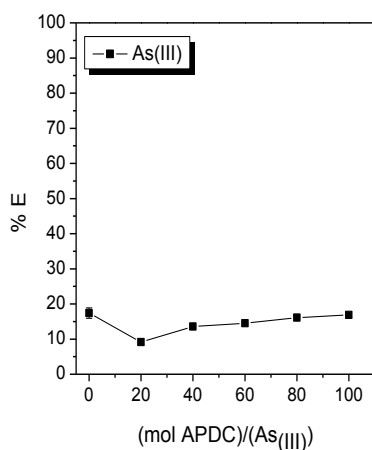


Figura 17. Efeito da natureza e concentração do extratante APDC na extração de As(III) no SAB formado por PEO1500 + Na₂SO₄ + H₂O, em pH = 3,00, no CLA igual a 40,10% m/m.

Nessas condições, a maior %E foi obtida na ausência de APDC, próxima a 20%. Com esse resultado, optou-se por trabalhar com o extratante APDC em um SAB formado por copolímero.

O PEO1500 é um polímero hidrofílico e o copolímero escolhido para o próximo experimento, o L64, é um copolímero de caráter hidrofóbico. Portanto, devido à hidrofobicidade do APDC, decidiu-se então trabalhar com esse extratante na presença do copolímero tribloco L64, a fim de obter maiores porcentagens de extração de As(III).

Foram avaliados dois tipos de extratantes utilizando o copolímero L64: APDC e DDTP, com a finalidade de determinar o que melhor complexa o arsenito em solução (AsO₂⁻). Os dois extratantes estudados são capazes de complexar apenas o As(III) [75].

A Figura 18 apresenta as %E de As(III) a medida que a concentração dos extratantes aumenta em um SAB composto por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, em pH = 6,00 (CLA = 41,83% m/m).

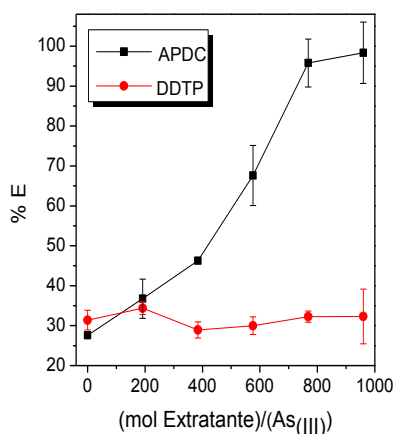


Figura 18. Efeito da natureza e concentração dos extratantes na extração de As(III) no SAB formado por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, em pH = 6,00, no CLA igual a 41,83% m/m.

Ao analisar a figura acima, percebe-se que na ausência de APDC, o arsênio permanece na sua maioria na fase inferior (FI), já que a %E é próxima de 30%. A porcentagem de extração máxima, em torno de 98% foi obtida com o uso de APDC na proporção molar de 1:960 (arsênio:APDC).

Esse comportamento descrito pode ser explicado baseado nas interações do AsO_2^- com os íons presentes na FI do SAB e com o APDC. Quando a interação arsênio-sal é mais forte que a interação arsênio-extratante (ou na ausência de APDC), o arsênio permanece na fase inferior e, portanto não é extraído satisfatoriamente para a fase superior. Vale ressaltar, que esse valor obtido de porcentagem de extração do arsenito na ausência de extratante encontrado no presente trabalho é considerado alto, quando comparado com outras extrações reportadas na literatura que utilizam SAB para extração de íons metálicos [39,42,77].

O alto valor da %E obtido na ausência de APDC pode ser melhor compreendido através do modelo do Pseudopolicación. Um pseudopolicación consiste em uma macromolécula do copolímero formador do sistema solvatada pelos cátions do eletrólito (Figura 19).

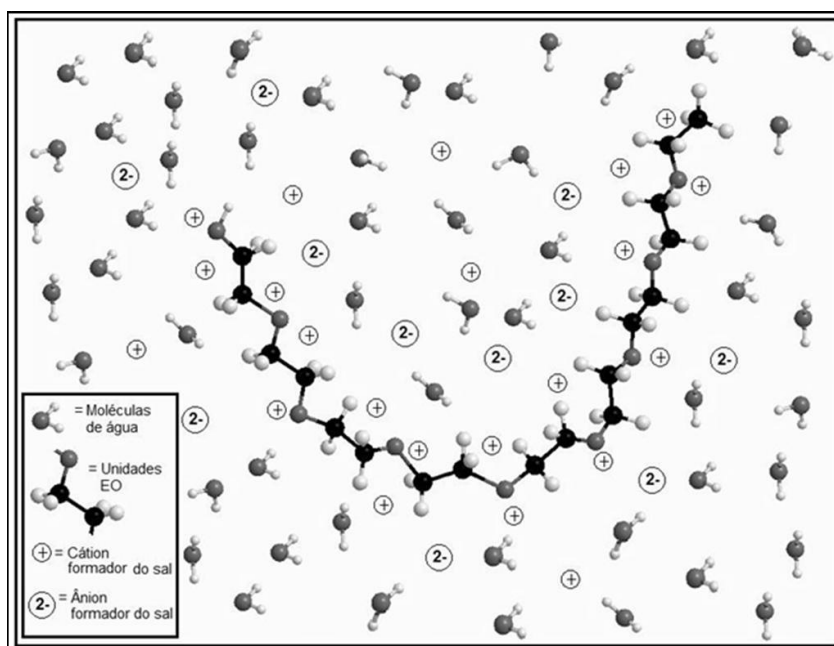


Figura 19. Representação da estrutura de um pseudopolicación [53].

Esse modelo explica o papel do cátion do eletrólito na extração do íon para a FS. Esses cátions interagem com a macromolécula do polímero, solvatando-a, e assim, intensificam a extração do analito para a FS mesmo na ausência de extratante, pois a interação do analito com o pseudopolicación é que irá reger a partição desse nessas condições [78].

O uso do extratante DDTP (Figura 20) não levou a uma extração significativa do As(III) para a FS (%E < 35%) como o esperado baseando-se na literatura, já que esse extratante é capaz de complexar o As(III).

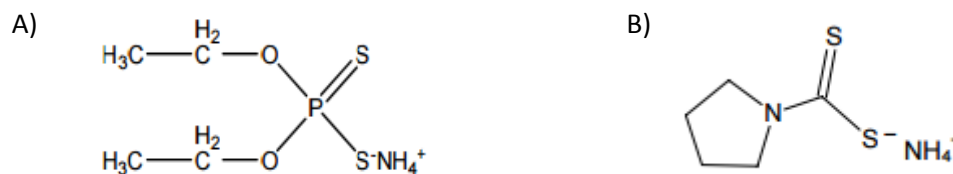


Figura 20. Estruturas do extratantes: A) DDTP, B) APDC.

O último extratante estudado foi o heptamolíbdatto de amônio, sendo este já conhecido como um extratante que complexa apenas o As(V) [75]. Seu estudo foi realizado em um SAB composto por L64 + Na₂SO₄ + H₂O (CLA = 41,83% m/m), em diferentes valores ácidos de pH, na sua solubilidade máxima (aproximadamente 94000 mg kg⁻¹) (Figura 21).

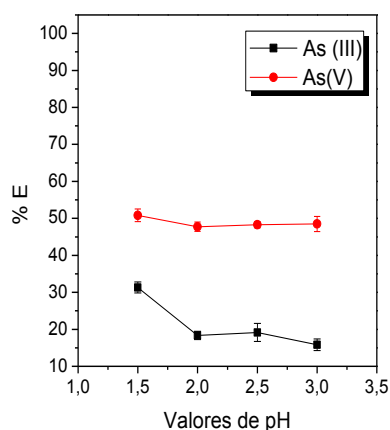


Figura 21. Efeito dos valores de pH (1,5; 2,0; 2,5; e 3,0) na extração de As(III) e As(V) no SAB formado por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, no CLA igual a 41,83% m/m e utilizando o heptamolíbdatto de amônio como extratante.

Através da Figura 21, percebe-se que esse extratante além de não extrair o As(III) como esperado, também não extraiu de forma satisfatória o As(V), sendo sua %E máxima próxima a 50% no pH = 1,5.

Esses resultados obtidos na extração de As(III) com o extratante DDTP e heptamolíbdatto de amônio mostram que o sistema aquoso bifásico é um método de

extração mais complexo em relação a uma ELL. Isso porque possui um maior número de variáveis (sal, polímero, extratante, dentre outras) que envolvem uma termodinâmica mais elaborada. Por esses motivos, alguns analitos em SAB possuem diferentes comportamentos e interações, que ainda requerem mais estudos.

Portanto, diante dos resultados acima o APDC foi o extratante escolhido para os próximos experimentos de extração de As(III) em SAB.

4.4. Influência do pH do meio reacional

Após a escolha do APDC como agente extrator do As(III) no SAB formado por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, foram avaliados diferentes valores de pH do solvente (água deionizada) usado no preparo das soluções estoque do copolímero e sal.

A Figura 22 apresenta o efeito do pH do meio (2,00; 6,00; 8,00 e 11,00) no comportamento de extração de As(III) em SAB formado por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, no CLA = 41,83% m/m.

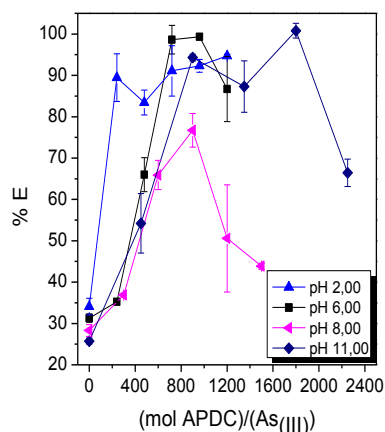
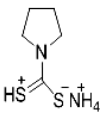
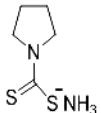
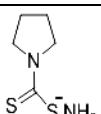
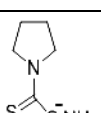


Figura 22. Efeito da influência do pH do meio reacional na extração de As(III) no SAB composto por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, CLA = 41,83% m/m, e na presença do extrator APDC.

Através da Figura 22 é possível observar que o pH do meio influencia na extração de As(III) utilizando o APDC, sendo que em pH = 6,00 foi obtido o maior valor de %E (99,35%). Este comportamento pode estar associado à dependência das estruturas moleculares do extratante, do eletrólito e do próprio arsênio em função do pH, conforme apresentado pela Tabela 8.

Tabela 8. Estruturas das moléculas de extratante, arsênio e eletrólito com a variação do pH das soluções estoque.

pH	Extratante ($pK_a = 5,42$)	Arsênio (III) ($pK_a = 9,3$)	Eletrólito ($pK_{a2} = 1,99$)
2,00		HAsO ₂	HSO ₄ ⁻
6,00		HAsO ₂	SO ₄ ²⁻
8,00		HAsO ₂	SO ₄ ²⁻
11,00		AsO ₂ ⁻	SO ₄ ²⁻

Em pH = 6,00, onde a extração do analito para a fase superior do SAB foi mais favorecida, apesar da molécula do eletrólito estar predominantemente sob a forma SO₄²⁻, a interação do arsênio em solução (HAsO₂) com a molécula de extratante com carga líquida -1 foi mais intensa. E, portanto o número de complexos formados entre extratante e o analito foi maior e, conseqüentemente, a %E do mesmo para a FS também foi maior nessas condições.

Ao comparar os resultados obtidos na Figura 22 com as estruturas apresentadas na Tabela 8 nos outros valores de pH não é possível obter uma relação totalmente assertiva sobre a dependência das moléculas envolvidas no sistema com o valor de pH. Isso pode ser devido ao fato de que não se conhece o valor exato do pH do sistema após colocar as soluções estoque em contato, ou seja, após a formação do SAB.

Como o maior valor da %E do arsênio foi obtida pH igual a 6,00 foi escolhido esse valor de pH das soluções estoque, ou seja, sem ajustes, para os demais estudos.

4.5. Efeito da natureza do eletrólito

A avaliação da influência do eletrólito formador do SAB foi realizada utilizando sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), sulfato de lítio monohidratado (Li₂SO₄.H₂O), sulfato de

magnésio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), citrato de sódio dihidratado ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e tatarato de sódio dihidratado ($\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) como eletrólitos formadores do SAB.

4.5.1. Influência do cátion do eletrólito

Sistemas formados por L64 + H_2O , em $\text{pH} = 6,00$, com os sais Na_2SO_4 , $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, em CLA = 41, 83, 41,86 e 42,05% m/m, respectivamente, foram estudados para analisar a influência do cátion do eletrólito na extração de As(III) e os resultados são apresentados na Figura 23.

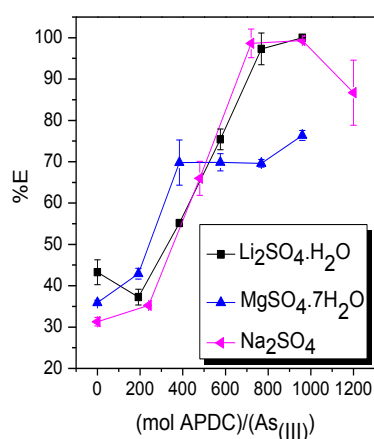


Figura 23. Efeito da natureza do cátion do eletrólito formador do SAB na extração de As(III) na presença do extrator APDC, em $\text{pH} = 6,00$.

Através da Figura 23 percebe-se que na presença de Na_2SO_4 e $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ o As(III) apresentou comportamento de extração bem semelhante. Já o SAB formado por $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ apresentou comportamento de extração diferente e valores de %E mais baixos (%E = 76,36%).

Esses valores mais baixos podem ser justificados devido ao fato de que nos ensaios de extração do SAB com $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ foi observada uma coloração marrom na FS do SAB, tanto nos ensaios na presença do metal quanto nos brancos. Isso nos leva a supor que houve uma competição entre o magnésio e o metal pela complexação com extratante APDC, diminuindo a %E do analito. Além disso, o magnésio em comparação com o sódio e o lítio possui carga +2, o que faz com que sua interação com o arsênio em

solução (HAsO_2) na FI seja mais intensa o que, conseqüentemente, diminui a %E do analito.

4.5.2. Influência do ânion do eletrólito

Para analisar a influência apenas dos ânions utilizou-se diferentes eletrólitos, todos constituídos pelo cátion Na^+ (Figura 24). Optou-se por utilizar eletrólitos formados por esse cátion devido principalmente ao menor custo do Na_2SO_4 e devido aos sistemas formados tanto por lítio e magnésio, em CLA elevados, serem bastante viscosos e, conseqüentemente, mais difíceis de trabalhar.

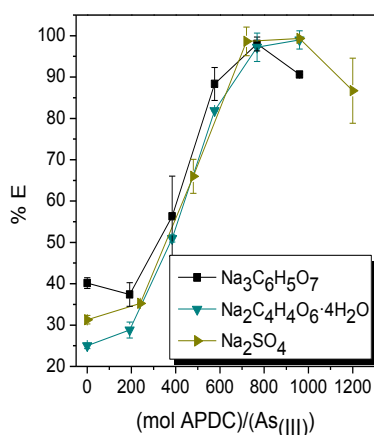


Figura 24. Efeito da natureza do ânion do eletrólito formador do SAB na extração de As(III) na presença do extrator APDC, e em $\text{pH} = 6,00$.

É notável que o ânion do eletrólito não influencia expressivamente a porcentagem de extração de As(III), já que com o uso dos três eletrólitos, Na_2SO_4 , $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, a extração apresentou comportamento semelhante ao longo da variação da concentração de APDC. Além disso, foi variado a natureza do sal em um valor de pH fixo, igual a 6,00. Nesse valor de pH , os ânions desses sais estão todos nas suas formas desprotonadas, ou seja, carregados negativamente.

Na ausência de extratante houve uma pequena diferença no comportamento de extração do As(III) ao variar os ânions dos eletrólitos, já que na ausência de extratante a interação do eletrólito com o analito é que governa a %E do mesmo. Percebe-se pela Figura 24 que o ânion tartarato foi o que apresentou maior interação com o HAsO_2 já que a %E do mesmo para a FS obtida foi a menor. Porém, não foram encontradas as

constantes de formação de cada complexo para justificar de modo mais adequado esse resultado.

Logo, no estudo de otimização, foi escolhido o sal Na_2SO_4 para compor o SAB, devido a sua maior praticidade no preparo do ensaios contendo o copolímero L64, especialmente na menor viscosidade do sistema obtido com este sal.

Diante desses resultados pode se inferir que a natureza do cátion formador do SAB afeta mais expressivamente a extração do arsênio, quando comparada à natureza do ânion do eletrólito.

4.6. Efeito da natureza do polímero

Como pode ser visto no tópico 4.3, sistemas constituídos pelo polímero PEO1500 na presença do extratante KI ou APDC não apresentaram resultados satisfatórios de %E para o As(III).

Para avaliar melhor o efeito da natureza da macromolécula formadora do SAB, dois copolímeros tribloco foram analisados para a extração de As(III), L64 e L35, no SAB composto por Na_2SO_4 e H_2O , em CLA iguais a 41,83 e 46,77% m/m, respectivamente (Figura 25).

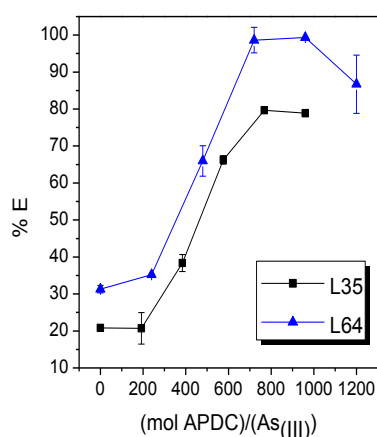


Figura 25. Efeito da natureza do copolímero formador do SAB na extração de As(III) na presença do extrator APDC, e em pH = 6,00.

De acordo com a Figura 25, é na presença do copolímero L64 onde ocorre a maior extração de As(III), sendo a %E máxima igual a 99,35%.

O L64 é um copolímero tribloco que possui em sua estrutura maior porcentagem de óxidos de propileno ((EO)₁₃(PO)₃₀(EO)₁₃) quando comparado com o copolímero L35 ((EO)₁₁(PO)₁₆(EO)₁₁). O L64 apresenta 60% de óxido de propileno e massa molar de 2900 g mol⁻¹, ao passo que o L35 apresenta 50% de óxido de propileno e massa molar de 1900 g mol⁻¹. Isso gera na molécula de L64 um maior caráter hidrofóbico quando comparada ao L35, o que proporciona a formação de um SAB cuja fase superior é mais hidrofóbica. E, conseqüentemente, um SAB cuja solubilização desses complexos de menor polaridade no interior das micelas de copolímero é intensificada.

4.7. Influência do comprimento da linha de amarração

No estudo seguinte do trabalho proposto, avaliou-se o comprimento da linha de amarração nos níveis: 33,55; 41,83; e 47,82% m/m no SAB formado por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, em pH = 6,00 (Figura 26).

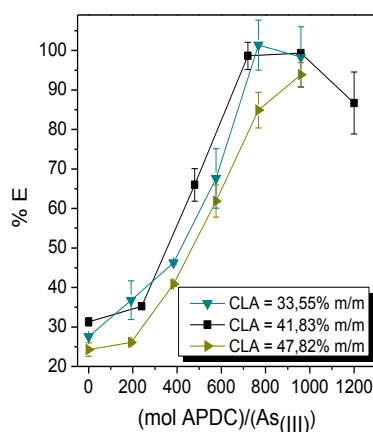


Figura 26. Efeito do primeiro, segundo e terceiro CLA na extração de As(III) no SAB composto por L64 + Na₂SO₄ + H₂O em pH = 6,00, na presença do extrator APDC.

De acordo com a Figura 26, no terceiro CLA (47,82 % m/m) a máxima porcentagem de extração de As(III) foi menor, %E = 93,89%, quando comparada as extrações obtidas no primeiro (33,55% m/m), %E = 98,33% e no segundo CLA (41,83% m/m), %E = 99,35%.

Ao utilizar CLA = 47,82% m/m, aumentam-se as diferenças entre as composições das fases superior e inferior do sistema (*i.e.*, propriedades termodinâmicas intensivas), e ao mesmo tempo em que a quantidade de polímero aumenta na FS, a quantidade de sal também aumenta na FI. Logo, maior será a competição do eletrólito com o extrator pela interação com o arsênio [53], mantendo mais o analito na fase salina. Vale ressaltar que o polímero na FS do SAB também rege um importante papel na extração do analito (conforme mostrado no item 4.6), mas sob estas condições estudadas, a partição do complexo arsenito-APDC parece não ser modulada significativamente pela concentração de L64.

A maior extração do arsênio (%E = 99,35%) foi alcançada no CLA = 41,83% m/m. Contudo, no primeiro CLA (33,55% m/m), na mesma proporção de APDC, a extração do arsênio foi igual a 98,33%. Como os resultados não diferiram significativamente decidiu-se por utilizar o primeiro comprimento da linha de amarração, de 33,55% m/m, pois nesse CLA as diferenças entre as composições das fases (copolímero e eletrólito) do SAB são menos acentuadas, e, portanto, o gasto de reagentes foi reduzido.

4.8. Especificação do arsênio inorgânico

Diante desses resultados, é possível observar a diferença no comportamento de partição dos arsênios inorgânicos ao utilizar sistemas aquosos bifásicos e extratantes apropriados. E em virtude desse comportamento, foi estudado a capacidade de especificação do As(III) e As(V) nas concentrações iguais a 30 mg kg⁻¹ e nas condições otimizadas para a extração do As(III). Ou seja, no SAB composto por L64 + Na₂SO₄ + H₂O em pH = 6,00, na presença do extrator APDC e em CLA = 33,55% m/m (Figura 27).

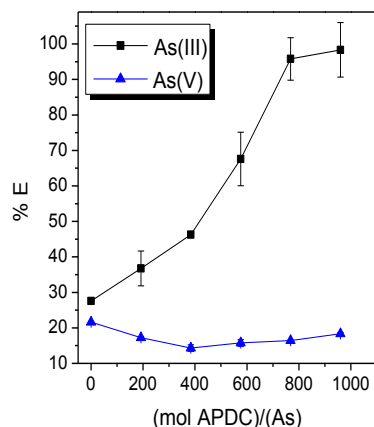


Figura 27. Extração de As(III) e As(V) no SAB composto por L64 + Na₂SO₄ + H₂O em pH = 6,00, CLA = 33,55% m/m e na presença do extrator APDC.

A Figura 27 mostra que a maior extração de As(V) ocorreu na ausência de APDC (%E = 21,62%), logo se confirma que ao adicionar o extratante APDC na presença do íon arsenato (H₂AsO₄⁻) em solução, não há a formação do complexo e, portanto esse não é extraído para a FS satisfatoriamente.

Na razão molar de 1:960 de arsênio-APDC, onde ocorre a máxima extração de As(III) (%E = 98,33%), a porcentagem de extração de As(V) é próxima de 18%. Apesar da separação considerável das espécies de arsênio, o que confirma o potencial do SAB, nessas condições, para a especiação de arsênio inorgânico, é possível aumentar ainda mais o fator de separação dessas espécies.

Com o objetivo de diminuir a porcentagem de As(V) na FS pode-se realizar extrações sucessivas no sistema, iguais ao procedimento de extração descrito em 3.3.2. Pois, ao recolher a FS do primeiro sistema de extração, contendo aproximadamente 18% de As(V) e 98% de As(III) e alimentá-la com uma nova FI, o As(V) que possui maior interação com a FI, já que aproximadamente 82% permaneceu na mesma, ficará mais concentrado nessa fase, aumentando consequentemente o fator de separação entre As(V) e As(III) no SAB.

4.9. Influência da razão das massas das fases

Esse estudo foi realizado variando as seguintes razões mássicas entre as fases: $m_{FI}/m_{FS} = 1:1; 2:1; 4:1; 6:1; 8:1$ e $9:1$, para extração de As(III) como mostrado na Figura

28. Trabalhou-se com um aumento da massa da FI em relação a FS a fim de obter um compromisso maior com o fenômeno de pré-concentração do arsênio.

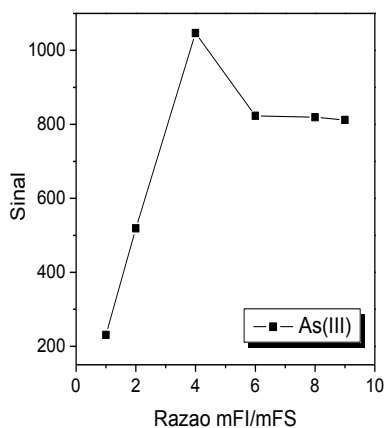


Figura 28. Influência da razão das massas das FI e FS ($m_{FI}/m_{FS} = 1:1; 2:1; 4:1; 6:1; 8:1$ e $9:1$) na extração de As(III) no SAB composto por $L64 + Na_2SO_4 + H_2O$ em $pH = 6,00$, na presença do extratante APDC.

Ao variar a razão das massas e analisar os sinais com o aumento da massa de FI, percebe-se através da Figura 28 que a razão 4:1 de massa de FI:FS possibilitou um alto sinal analítico (melhor pré-concentração) quando comparado as outras razões de massas das fases. E a partir da razão 6:1 percebe-se que houve uma estagnação no valor do sinal, mostrando uma possível saturação na FS pelo complexo arsênio-APDC à medida que a razão mássica entre FI/FS aumenta.

A influência das massas das FS e FI na extração de um analito está relacionada através de dois fenômenos. Um aumento da FS em relação a FI implica em uma maior %E, já que uma maior quantidade de polímero (e, conseqüentemente, sítios de extração) estará presente no sistema, sendo capaz de concentrar uma maior quantidade do complexo na FS. Já um aumento na massa de FI em relação a FS implica em menor %E, pois haverá menos polímero para interagir com o complexo. Porém, implica em uma maior pré-concentração do analito na FS (aumento de sinal), o que é interessante do ponto de vista de metodologias analíticas para determinação de baixos teores de determinado analito.

Com esse resultado, optou-se por trabalhar na razão 1:4 ($m_{FS} = 3,000$ g; $m_{FI} = 12,000$ g) nos próximos experimentos (Figura 29), onde um compromisso entre a pré-concentração e porcentagem de extração do analito foi encontrado. Portanto, utilizou-se

essa razão para validar a metodologia com máxima sensibilidade para determinações de As(III).

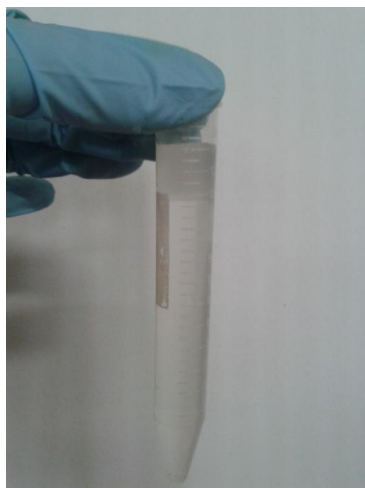


Figura 29. Extração do complexo arsênio-APDC para a FS utilizando a razão mássica de 4:1 (FI:FS) no SAB composto por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, em pH = 6,00.

4.10. Validação do método

Na etapa de validação do método foi necessário a utilização do gerador de hidretos (introdutor de amostras) acoplado ao ICP-OES utilizado nas etapas de otimização. Isso porque para validar o método na faixa das concentrações exigidas pela legislação em diferentes amostras, trabalhou-se com concentrações mais baixas de arsênio, e por isso foi preciso uma técnica mais sensível.

4.10.1. Otimização das condições do HG-ICP-OES

Para obtenção de um maior sinal analítico no HG-ICP-OES estudou-se alguns níveis de concentração dos reagentes usados para formação dos hidretos voláteis de arsênio (Eq. 2). Analisou-se a concentração de HCl (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 mol L⁻¹) nas amostras, e a concentração de NaOH (0,1; 0,2; 0,3 mol L⁻¹) e de NaBH₄ (0,4; 0,55; 0,65; 0,80% m/v) utilizados no gerador de hidretos (Figura 30). Esses valores foram escolhidos de acordo com alguns estudos encontrados na literatura [79-82].

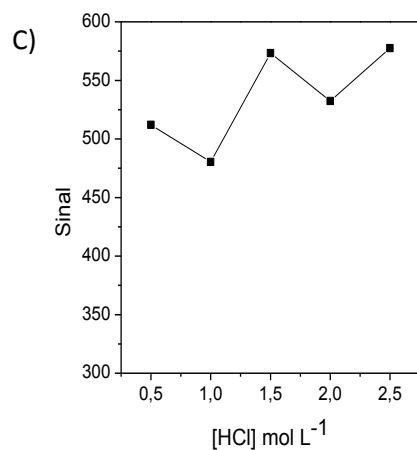
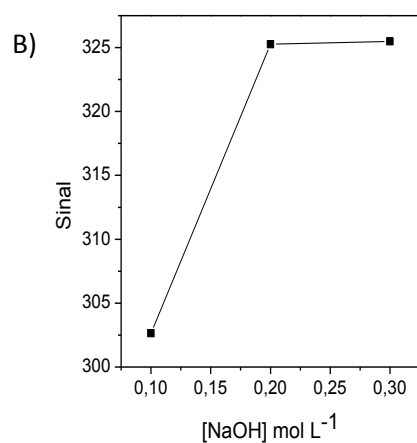
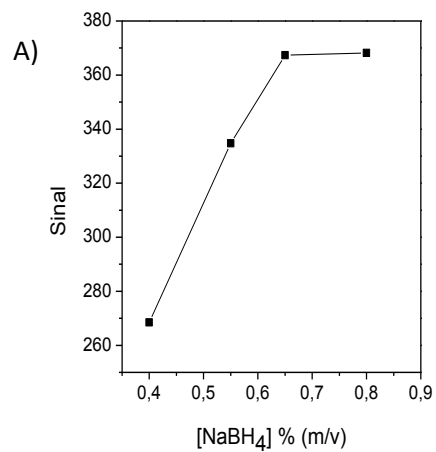


Figura 30. Otimização das concentrações dos reagentes utilizados no HG-ICP-OES: A) NaBH₄ (0,4; 0,55; 0,65 e 0,80% m/v); B) NaOH (0,1; 0,2 e 0,3 mol L⁻¹); C) HCl (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mol L⁻¹).

Pelos gráficos 30A, 30B e 30C da figura acima foram encontradas as concentrações dos reagentes que geraram maior sinal analítico no equipamento para a extração de As(III), respectivamente: 0,65% m/v de NaBH₄, 0,2 mol L⁻¹ de NaOH e 1,5 mol L⁻¹ de HCl.

Os hidretos formados no equipamento são gerados a partir da reação de uma solução redutora com um ácido, sendo esses geralmente uma solução de NaBH₄ estabilizada em NaOH, reagindo com HCl. Porém, altas concentrações de NaBH₄ podem gerar turbulência no equipamento devido a alta formação de H₂ (Eq. 2), apesar de aumentar o sinal analítico [80,81]. Portanto, nessas condições encontradas foi possível obter um compromisso entre um aumento de sinal analítico e a estabilização do plasma e de todo o equipamento.

Como já citado anteriormente nos parâmetros utilizados no HG-ICP-OES (Tabela 4), o comprimento de onda usado foi diferente do comprimento de onda utilizado no ICP-OES durante as etapas de otimização. A imagem abaixo são espectros de emissão correspondentes ao arsênio dos ensaios de extração durante a validação do método, no comprimento de onda igual a 193,696 nm (Figura 31).

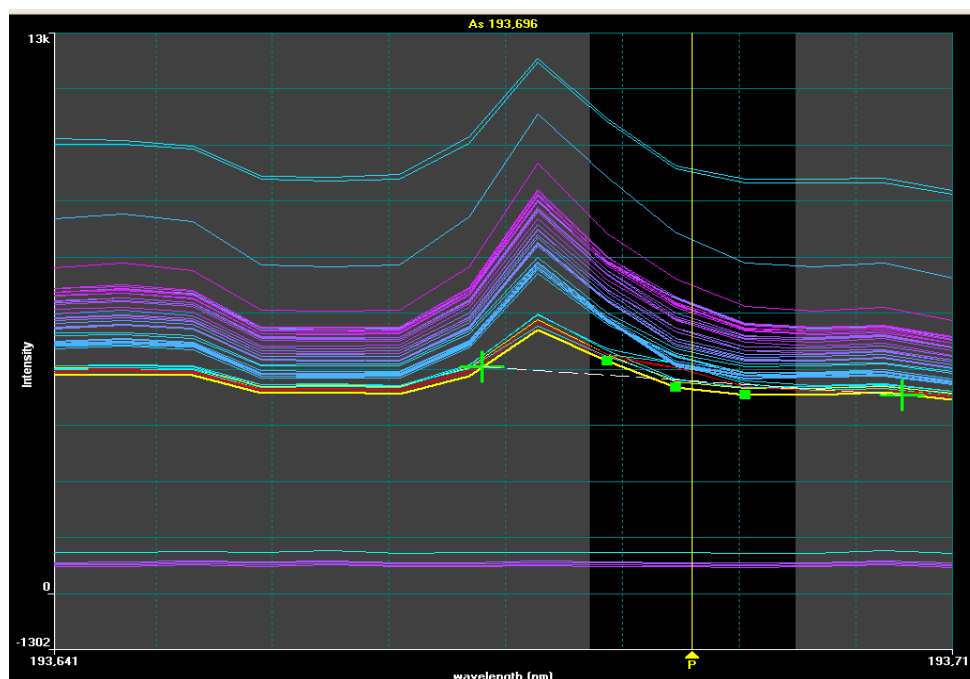


Figura 31. Espectros de emissões correspondentes ao arsênio no comprimento de onda igual a 193,696 nm nas análises obtidas por HG-ICP-OES.

Através da Figura 31 percebe-se que houve um deslocamento dos picos (interferência espectral) correspondentes ao arsênio no comprimento de onda de 193,696 nm ao utilizar o gerador de hidretos. O comprimento de onda de 193,696 nm é o mais sensível, porém o comprimento igual a 188,979 nm possui menos interferências espectrais e, portanto, foi utilizado nos estudos de validação.

4.10.2. Figuras de mérito

Sob as condições ótimas estabelecidas, as principais figuras de mérito do trabalho proposto foram determinadas. Os resultados estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Figuras de mérito do método proposto para extração de As(III) analisadas por HG-ICP-OES.

Parâmetros		Valores
	Faixa Linear	0,66 – 80,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$
	R ²	0,9957
	LD	0,20 $\mu\text{g kg}^{-1}$
	LQ	0,66 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Concentrações		
DPR (%) (n = 6)	5 $\mu\text{g kg}^{-1}$	8,31
	25 $\mu\text{g kg}^{-1}$	5,85
	40 $\mu\text{g kg}^{-1}$	9,45
	70 $\mu\text{g kg}^{-1}$	4,88
DPR Interdias (%)	25 $\mu\text{g kg}^{-1}$	11,1
Erro relativo (%)	5 $\mu\text{g kg}^{-1}$	-7,44
	25 $\mu\text{g kg}^{-1}$	6,58
	40 $\mu\text{g kg}^{-1}$	9,90
	70 $\mu\text{g kg}^{-1}$	7,73
Recuperação (%)	5 $\mu\text{g kg}^{-1}$	92,6
	25 $\mu\text{g kg}^{-1}$	107
	40 $\mu\text{g kg}^{-1}$	110
	70 $\mu\text{g kg}^{-1}$	108

Para avaliar a linearidade preparou-se os SABs em triplicata, com a concentração de As(III) variando de 0 - 80 $\mu\text{g kg}^{-1}$ na FI do sistema, e a concentração do extratante APDC constante na FS (aproximadamente 63150 mg kg^{-1}). O valor do coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9957 juntamente com os testes de *outliers* (Teste de Jacknife) e homocedasticidade (Teste de Levene) mostraram que a relação entre sinal analítico e concentração do método estudado segue uma regressão linear [83]. A partir da Análise de Variância (ANOVA), a equação da reta final obtida para essa curva analítica construída foi: $y = 7,94845x - 18,34793$, onde y é a intensidade da linha de emissão de arsênio e x é a concentração de arsênio em $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Para o cálculo do LD ($\text{LD} = 3(\text{s/m})$) e LQ ($\text{LQ} = 10(\text{s/m})$) preparou-se sete brancos e a partir da curva analítica acima, encontrou-se um LD igual a 0,20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e LQ igual a 0,66 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Este valor de LQ é suficiente, por exemplo, diante do teor máximo permitido pela Portaria nº 2.914 de 0,01 mg L^{-1} de arsênio total em água para consumo humano.

No estudo de precisão (repetitividade) determinou-se o desvio padrão relativo (DPR) para quatro níveis de concentrações diferentes de As(III) (5,00; 25,0; 40,0; e 70,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$), em 6 replicatas cada. Valores iguais a 8,31, 5,85, 9,45, e 4,88%, respectivamente, foram encontrados para os níveis de concentrações 5,00; 25,0; 40,0; e 70,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Estes valores estão de acordo com os limites aceitáveis (DPR menor que 15%), conforme o guia de validação da ANVISA (Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003). Além disso, para a precisão interdias ($n = 15$) foi utilizada a concentração de 25,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de As(III), mantendo todas as outras condições experimentais constantes. O DPR para essa concentração, igual a 11,1%, é também considerado aceitável de acordo com o guia utilizado.

Para avaliar a exatidão do método de extração realizaram-se ensaios de recuperação nas mesmas concentrações de arsênio do estudo de precisão (5,00; 25,0; 40,0; e 70,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$) em triplicata. Diante dos resultados, o método também foi considerado exato já que gerou erros relativos iguais a: -7,44% (5,00 $\mu\text{g kg}^{-1}$), 6,58% (25,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$), 9,90% (40,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$) e 7,73% (70,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$), e porcentagens de recuperação que variaram de 92,6 – 110% .

Esses resultados estão em conformidade com alguns exemplos de estudos relatados na literatura que validaram métodos de especiação de arsênio inorgânico em diferentes amostras, os quais apresentaram taxas de recuperação que variaram entre 88 e 105% [84,85].

5. Conclusões

Neste trabalho, foi desenvolvido um método de extração líquido-líquido empregando sistemas aquosos bifásicos para extração e especiação de arsênio inorgânico.

O objetivo de extração e determinação de arsênio inorgânico do trabalho foi alcançado com uma %E próxima a 98% do As(III). E devido ao diferente comportamento do As(V) no sistema, que permaneceu na sua maioria na FI, determinou-se o grande potencial do SAB para a especiação de arsênio inorgânico.

Durante a otimização do método de extração analisou-se parâmetros, como: pH do meio, a natureza do eletrólito e do polímero formador, o comprimento da linha de amarração do sistema e a natureza e concentração dos extratantes, a fim de obter máxima extração do analito. A melhor %E do As(III) foi obtida no SAB composto por L64 + Na₂SO₄ + H₂O, utilizando o solvente em pH = 6,00, o APDC como agente extrator na concentração de 63150 mg kg⁻¹, e com as composições das fases no primeiro comprimento da linha de amarração.

As principais figuras de mérito (linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão e precisão) foram estudadas e determinadas na validação do método de extração proposto. Sendo o método considerado linear com um coeficiente de determinação igual 0,9957, preciso (DPR < 15%), exato (ER < 10%) e com recuperação satisfatória (92,6 - 110%). Além disso, o LQ igual 0,66 µg kg⁻¹ está de acordo com a legislação vigente para, por exemplo, o limite máximo permitido de arsênio em água para consumo humano (10 µg L⁻¹).

Sendo assim, o método do Sistema Aquoso Bifásico é uma alternativa ambientalmente segura e eficaz para a extração líquido-líquido, apropriada nessas condições determinadas para extração e especiação de arsênio inorgânico.

A próxima etapa desse trabalho seria extrair de forma sequencial também o As(V) para a fase superior, para que assim todo o arsênio inorgânico seja particionado da amostra. Ou realizar um estudo de pré-redução do As(V) a As(III) para a determinação de arsênio total.

Além disso, outra perspectiva seria aplicar o método de extração já validado a uma amostra real, de água contaminada com arsênio ou a uma amostra de lixiviado de resíduos de mineração.

6. Referências Bibliográficas

- [1] M.B. Gumpu, S. Sethuraman, U.M. Krishnan, J.B.B. Rayappan, A review on detection of heavy metal ions in water - An electrochemical approach, *Sensors and Actuators B-Chemical*, 213 (2015) 515-533.
- [2] Y.V. Nancharaiah, S.V. Mohan, P.N.L. Lens, Metals removal and recovery in bioelectrochemical systems: A review, *Bioresource Technology*, 195 (2015) 102-114.
- [3] J. Emsley, *Natures building block: an A-Z guide to the elements*, Oxford University Press, 43 (2001) 513–529.
- [4] D.G. Ahoule, F. Lalanne, J. Mendret, S. Brosillon, A.H. Maiga, Arsenic in African Waters: A Review, *Water Air and Soil Pollution*, 226 (2015).
- [5] J.W.V. de Mello, W.A.P. Abrahão, Geoquímica da drenagem ácida, In: L.E. Dias, J.W.V. Mello, *Recuperação de Áreas Degradadas*, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, (1998) 45-57.
- [6] US Environmental Protection Agency (EPA), Basic Information about the Arsenic Rule. Disponível em: <<http://water.epa.gov/lawsregs/rulesregs/sdwa/arsenic/Basic-Information.cfm#three>>. Acesso em: 10/12/2015.
- [7] International Agency for Research on Cancer (IARC), Summaries & evaluations: Arsenic in drinking-water (Group 1), 84 (2004) 39. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/iarc/vol84/84-01-arsenic.html>>. Acesso em: 10/12/2015.
- [8] B.E. Hettick, J.E. Canas-Carrell, A.D. French, D.M. Klein, Arsenic: A Review of the Element's Toxicity, Plant Interactions, and Potential Methods of Remediation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63 (2015) 7097-7107.

- [9] I. Komorowicz, D. Baralkiewicz, Arsenic and its speciation in water samples by high performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry-Last decade review, *Talanta*, 84 (2011) 247-261.
- [10] C.M. Barra, R.E. Santelli, J.J. Abrão, M. La Guardia, Especificação de Arsênio - Uma Revisão, *Química Nova*, 23 (2000).
- [11] T. Joseph, B. Dubey, E.A. McBean, A critical review of arsenic exposures for Bangladeshi adults, *Science of the Total Environment*, 527 (2015) 540-551.
- [12] L. Benramdane, M. Accominotti, L. Fanton, D. Malicier, J.J. Vallon, Arsenic speciation in human organs following fatal arsenic trioxide poisoning - A case report, *Clinical Chemistry*, 45 (1999) 301-306.
- [13] R.L. Shannon, D.S. Strayer, Arsenic-Induced skin toxicity, *Human Toxicology*, 8 (1989) 99-104.
- [14] O. Selinus, B. Alloway, J.A. Centeno, R.B. Finkelman, R. Fuge, U. Lindh, P. Smedley, *Essentials of Medical Geology: Impacts of the Natural Environment on Public Health*, Elsevier Academic Press, (2005) 374-377.
- [15] World Health Organization (WHO), Environmental Health Criteria 224: arsenic and arsenic compounds, (2001). Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc224.htm>>. Acesso em: 06/01/2016.
- [16] M.J. Trepka, J. Heinrich, C. Schulz, C. Krause, M. Popescu, M. Wjst, H.E. Wichmann, Arsenic burden among children in industrial areas of eastern Germany, *Science of the Total Environment*, 180 (1996) 95-105.
- [17] RESOLUÇÃO - RDC N°- 42, DE 29 DE AGOSTO DE 2013, Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos, *Diário Oficial da União*, (1) 33.

[18] Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde, Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

[19] World Health Organization (WHO). Guidelines for drinking-water quality, 3^a edition, 306-308b, 1 (2008). Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDW12rev1and2.pdf>. Acesso em: 06/01/2016.

[20] US Environmental Protection Agency (EPA), Arsenic Rule, (2002). Disponível em: <<http://water.epa.gov/lawsregs/rulesregs/sdwa/arsenic/regulations.cfm>>. Acesso em: 13/01/2016.

[21] A.H. Smith, E.O. Lingas, M. Rahman, Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency, Bulletin of the World Health Organization, 78 (2000) 1093-1103.

[22] G.L. Duan, W.J. Liu, X.P. Chen, Y. Hu, Y.G. Zhu, Association of arsenic with nutrient elements in rice plants, Metallomics, 5 (2013) 784-792.

[23] B.R. Figueiredo, R.P. Borba, R.S. Angélica, Arsênio no Brasil e exposição humana. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/publique/media/geo_med10.pdf>. Acesso em: 31/05/2016.

[24] J. Matschullat, R.P. Borba, E. Deschamps, B.R. Figueiredo, T. Gabrio, M. Schwenk, Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle, Brazil, Applied Geochemistry, 15 (2000) 181-190.

[25] M.A. Pereira, Estudo de elementos-traço em águas de abastecimento urbano e a contaminação humana: Um caso de Ouro Preto, Dissertação de mestrado, Departamento de Geologia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto – MG, (2006) 118.

- [26] A.M. Sakuma, E.M. De Capitani, B.R. Figueiredo, F.D. De Maio, M.M.B. Paoliello, F.G. da Cunha, M.C. Duran, Arsenic exposure assessment of children living in a lead mining area in Southeastern Brazil, *Cadernos De Saude Publica*, 26 (2010) 391-398.
- [27] J.C. Vanloon, R.R. Barefoot, Overview of Analytical Methods for Elemental Speciation, *Analyst*, 117 (1992) 563-570.
- [28] B.E.D. Costa, N.M.M. Coelho, L.M. Coelho, Determination of arsenic species in rice samples using CPE and ETAAS, *Food Chemistry*, 178 (2015) 89-95.
- [29] P. Samaddar, K. Sen, Competent arsenicals: aqueous biphasic extractions and their application in nitrate/nitrite speciation, *Rsc Advances*, 3 (2013) 20750-20757.
- [30] A.V. Zmozinski, T. Llorente-Mirandes, J.F. Lopez-Sanchez, M.M. da Silva, Establishment of a method for determination of arsenic species in seafood by LC-ICP-MS, *Food Chemistry*, 173 (2015) 1073-1082.
- [31] K. Hagiwara, T. Inui, Y. Koike, M. Aizawa, T. Nakamura, Speciation of inorganic arsenic in drinking water by wavelength-dispersive X-ray fluorescence spectrometry after in situ preconcentration with miniature solid-phase extraction disks, *Talanta*, 134 (2015) 739-744.
- [32] C.B. Boss, K.J. Fredeen, *Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, 3^a Edition, USA, Perkin Elmer, Inc. (2004) 120 p.
- [33] F.A. Settle, *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, Prentice Hall PTR (1997) 968 p.
- [34] D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch, *Fundamentos de Química Analítica*, 8^a Edição, Editora Thomson (2005), 1124 p.
- [35] I. Rojas, M. Murillo, N. Carrion, J. Chirinos, Investigation of the direct hydride generation nebulizer for the determination of arsenic, antimony and selenium in

inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 376 (2003) 110-117.

[36] A.L. Moretto, Determinação de arsênio por espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto em um sistema de injeção em fluxo, *Dissertação de Doutorado, Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas-SP, (2001).*

[37] P.T. Anastas, M.M. Kirchoff, *Accounts of Chemical Research*, 35 (2002) 686-693.

[38] P.T. Anastas, J.C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press, New York (1998) 30.

[39] L.R. de Lemos, I.J.B. Santos, G.D. Rodrigues, L.H.M. da Silva, M.C.H. da Silva, Copper recovery from ore by liquid-liquid extraction using aqueous two-phase system, *Journal of Hazardous Materials*, 237 (2012) 209-214.

[40] L.H. da Silva, M.D.H. da Silva, R.D.S. de Sousa, J.P. Martins, G.D. Rodrigues, J.S.R. Coimbra, L.A. Minim, Surface Excess Enthalpy of PEO plus Salt plus Water and L35+Salt + Water Aqueous Two-Phase Systems, *Journal of Chemical and Engineering Data*, 54 (2009) 531-535.

[41] L.H. Mendes da Silva, W. Loh, Aqueous two-phase systems: Fundamentals and applications for partitioning/purification of proteins, *Quimica Nova*, 29 (2006) 1345-1351.

[42] P.A. Albertsson, Chromatography and partition of cells and cell fragments, *Nature*, 177 (1956) 771-774.

[43] M.R Kula, K.H. Kroner, H. Husted, H. Schütte, Technical aspects of extractive enzyme purification, *Annals of the New York Academy Sciences*, 369 (1981) 341-354.

- [44] G.D. Rodrigues, L.R. de Lemos, L.H.M. da Silva, M.D.H. da Silva, L.A. Minim, J.S.D. Coimbra, A green and sensitive method to determine phenols in water and wastewater samples using an aqueous two-phase system, *Talanta*, 80 (2010) 1139-1144.
- [45] M.W. Beijerinck, Ueber eine eigentümlichkeit der löslichen Stärke, *Zbl. Bakt. II Natur.*, 627 (1896) 697-699.
- [46] M.W. Beijerinck, Ueber Emulsionsbildung bei der Vermischung wässriger Lösungen gewisser gelatinisierender Colloide, *Kolloid-Zeitschrift und Zeitschrift für Polymere*, 7 (1910) 16-20.
- [47] T.I. Zvarova, V.M. Shkinev, G.A. Vorobeva, B.Y. Spivakov, Y.A. Zolotov, Liquid-liquid-extraction in the absence of usual organic-solvents - application of 2-phase aqueous systems based on a water-soluble polymer, *Mikrochimica Acta*, 3 (1984) 449-458.
- [48] R.D. Rogers, A.H. Bond, C.B. Bauer, Metal ion separations in polyethylene glycol-based aqueous biphasic systems, *Separation Science and Technology*, 28 (1993) 1091-1126.
- [49] G.D. Rodrigues, M.D.H. da Silva, L.H.M. da Silva, F.J. Paggioli, L.A. Minim, J.S.D. Coimbra, Liquid-liquid extraction of metal ions without use of organic solvent, *Separation and Purification Technology*, 62 (2008) 687-693.
- [50] E.J. Lenardao, R.A. Freitag, M.J. Dabdoub, A.C.F. Batista, C.D. Silveira, Green chemistry - The 12 principles of green chemistry and its insertion in the teaching and research activities, *Quimica Nova*, 26 (2003) 123-129.
- [51] J. Rydberg, C. Musikas, G.R. Choppin, *Principles and Practices of Solvent Extraction*, Marcel Dekker: New York, (1992).
- [52] L.H. da Silva, M.D.H. da Silva, R.D.S. de Sousa, J.P. Martins, G.D. Rodrigues, J.S.R. Coimbra, L.A. Minim, Surface Excess Enthalpy of PEO plus Salt plus Water and

L35+Salt + Water Aqueous Two-Phase Systems, *Journal of Chemical and Engineering Data*, 54 (2009) 531-535.

[53] G.D. Rodrigues, Desenvolvimento e Aplicação de novos Sistemas Aquosos Bifásicos para a determinação e separação de metais, Dissertação de Doutorado, Programa de Pós Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, (2012).

[54] J.M. de Alvarenga, R.A. Fideles, M.V. da Silva, G.F. Murari, J.G. Taylor, L.R. de Lemos, G.D. Rodrigues, A.B. Mageste, Partition study of textile dye Remazol Yellow Gold RNL in aqueous two-phase systems, *Fluid Phase Equilibria*, 391 (2015) 1-8.

[55] M.C. de Oliveira, M.A.N. de Abreu, P.D. Pessoa, Phase equilibrium and protein partitioning in aqueous two-phase systems containing ammonium carbamate and block copolymers PEO-PPO-PEO, *Biochemical Engineering Journal*, 37 (2007) 311-318.

[56] G.D. Rodrigues, L.D. Teixeira, G.M.D. Ferreira, M.D.H. da Silva, L.H.M. da Silva, R.M.M. de Carvalho, Phase Diagrams of Aqueous Two-Phase Systems with Organic Salts and F68 Triblock Copolymer at Different Temperatures, *Journal of Chemical and Engineering Data*, 55 (2010) 1158-1165.

[57] B.Y. Zaslavsky, *Aqueous Two-Phase Partitioning: Physical Chemistry and Bio-analytical Applications*, Marcel Dekker, New York (1995).

[58] L.H.M. da Silva, M.D.H. da Silva, A.F. Mesquita, K.S. do Nascimento, J.S.R. Coimbra, L.A. Minim, Equilibrium phase behavior of triblock copolymer plus salt plus water two-phase systems at different temperatures and pH, *Journal of Chemical and Engineering Data*, 50 (2005) 1457-1461.

[59] A.M. Azevedo, P.A.J. Rosa, I.F. Ferreira, M.R. Aires-Barros, Chromatography-free recovery of biopharmaceuticals through aqueous two-phase processing, *Trends in Biotechnology*, 27 (2009) 240-247.

- [60] S.C. Ribeiro, G.A. Monteiro, J.M.S. Cabral, D.M.F. Prazeres, Isolation of plasmid DNA from cell lysates by aqueous two-phase systems, *Biotechnology and Bioengineering*, 78 (2002) 376-384.
- [61] M.S. Long, C.D. Keating, Nanoparticle conjugation increases protein partitioning in aqueous two-phase systems, *Analytical Chemistry*, 78 (2006) 379-386.
- [62] A.E. Visser, S.T. Griffin, D.H. Hartman, R.D. Rogers, Naphthol- and resorcinol-based azo dyes as metal ion complexants in aqueous biphasic systems, *Journal of Chromatography B*, 743 (2000) 107-114.
- [63] M. Yokoyama, Block copolymers as drug carriers, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 9 (1992) 213–248.
- [64] C. Wohlfarth, *CRC Handbook of Phase Equilibria and Thermodynamic Data of Aqueous Polymer Solutions*, Taylor & Francis Group, (2013) 766p.
- [65] D. Myers, *Surfactant Science and Technology*, 2^a Edition, New York: VCH Publishers, (1992).
- [66] G.M. Mao, S. Sukumaran, G. Beaucage, M.L. Saboungi, P. Thiyagarajan, PEO-PPO-PEO block copolymer micelles in aqueous electrolyte solutions: Effect of carbonate anions and temperature on the micellar structure and interaction, *Macromolecules*, 34 (2001) 552-558.
- [67] D.S. Leite, P.L.G. Carvalho, L.R. de Lemos, A.B. Mageste, G.D. Rodrigues, Hydrometallurgical separation of copper and cobalt from lithium-ion batteries using aqueous two-phase systems, *Hydrometallurgy*, 169 (2017) 245-252.
- [68] L.R. de Lemos, R.A. Campos, G.D. Rodrigues, L.H.M. da Silva, M.C.H. da Silva, Green separation of copper and zinc using triblock copolymer aqueous two-phase systems, *Separation and Purification Technology*, 115 (2013) 107-113.

- [69] G.D. Rodrigues, L.R. de Lemos, L.H.M. da Silva, M.C.H. da Silva, Application of hydrophobic extractant in aqueous two-phase systems for selective extraction of cobalt, nickel and cadmium, *Journal of Chromatography A*, 1279 (2013) 13-19.
- [70] M.F.B. Mota, E.M. Gama, G.D. Rodrigues, L.M. Costa, Optimization and validation of an environmentally friendly method for zinc determination in new and used lubricating oil samples, *Analytical Methods*, 8 (2016) 8435-8442.
- [71] G.D. Rodrigues, M.D.H. da Silva, L.H.M. da Silva, L.D. Teixeira, V.M. de Andrade, Liquid-Liquid Phase Equilibrium of Triblock Copolymer L64, Poly(ethylene oxide-b-propylene oxide-b-ethylene oxide), with Sulfate Salts from (278.15 to 298.15) K, *Journal of Chemical and Engineering Data*, 54 (2009) 1894-1898.
- [72] V.M. de Andrade, G.D. Rodrigues, R.M.M. de Carvalho, L.H.M. da Silva, M.C.H. da Silva, Aqueous two-phase systems of copolymer L64 plus organic salt plus water: Enthalpic L64-salt interaction and Othmer-Tobias, NRTL and UNIFAC thermodynamic modeling, *Chemical Engineering Journal*, 171 (2011) 9-15.
- [73] M.D.H. da Silva, L.H.M. da Silva, J. Amim, R.O. Guimaraes, J.P. Martins, Liquid-liquid equilibrium of aqueous mixture of triblock copolymers L35 and F68 with Na₂SO₄, Li₂SO₄, or MgSO₄, *Journal of Chemical and Engineering Data*, 51 (2006) 2260-2264.
- [74] J.P. Martins, C.D. Carvalho, L.H.M. da Silva, J.S.D. Coimbra, M.D.H. da Silva, G.D. Rodrigues, L.A. Minim, Liquid-liquid equilibria of an aqueous two-phase system containing poly(ethylene) glycol 1500 and sulfate salts at different temperatures, *Journal of Chemical and Engineering Data*, 53 (2008) 238-241.
- [75] S. Sounderajan, A.C. Udas, B. Venkataramani, Characterization of arsenic (V) and arsenic (III) in water samples using ammonium molybdate and estimation by graphite furnace atomic absorption spectroscopy, *Journal of Hazardous Materials*, 149 (2007) 238-242.

[76] D. Pozebon, V.L. Dressler, J.A.G. Neto, A.J. Curtius, Determination of arsenic(III) and arsenic(V) by electrothermal atomic absorption spectrometry after-complexation and sorption on a C-18 bonded silica column, *Talanta*, 45 (1998) 1167-1175.

[77] ANVISA - Resolução - RE nº 899 - "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos" de 29 de maio de 2003.

[78] R.D. Rogers, C.B. Bauer, Partitioning behavior of Group 1 and 2 cations in poly(ethylene glycol)-based aqueous biphasic systems, *Journal of Chromatography B-Biomedical Applications*, 680 (1996) 237-241.

[79] M. Welna, A. Szymczycha-Madeja, P. Pohl, Improvement of Determination of Trace Amounts of Arsenic and Selenium in Slim Coffee Products by HG-ICP-OES, *Food Analytical Methods*, 7 (2014) 1016-1023.

[80] A.S. Ribeiro, M.A. Vieira, A.J. Curtius, Determination of hydride forming elements (As, Sb, Se, Sn) and Hg in environmental reference materials as acid slurries by on-line hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 59 (2004) 243-253.

[81] A.I. Zappelini, Desenvolvimento do método HG-ICP OES para determinação simultânea de arsênio e selênio, Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, (2014).

[82] S. Salunkhe, The Analysis of Mercury and Arsenic in Naptha by Hydride Generation Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES), *Experimental Notes*, PerkinElmer.

[83] S.V.C. de Souza, R.G. Junqueira, A procedure to assess linearity by ordinary least squares method, *Analytica Chimica Acta*, 552 (2005) 25-35.

[84] L.M.G. Santos, S.D. Jacob, Optimization and validation of a methodology to determine total arsenic, As(III) and As(V), in water samples, through graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Ciencia E Tecnologia De Alimentos*, 29 (2009) 120-123.

[85] T. Llorente-Mirandes, J. Calderon, J.F. Lopez-Sanchez, F. Centrich, R. Rubio, A fully validated method for the determination of arsenic species in rice and infant cereal products, *Pure and Applied Chemistry*, 84 (2012) 225-238.