

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Doutorado em Química – Associação Ampla
UEL/UEPG/UNICENTRO

JUCIMARA KULEK DE ANDRADE

**ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS DE ÁGUA MINERAL E
ESPECIAÇÃO DE CROMO EM ÁGUAS NATURAIS EMPREGANDO MÉTODOS
DE MICROEXTRAÇÃO E ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA**

PONTA GROSSA

2018

JUCIMARA KULEK DE ANDRADE

**ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS DE ÁGUA MINERAL E
ESPECIAÇÃO DE CROMO EM ÁGUAS NATURAIS EMPREGANDO MÉTODOS
DE MICROEXTRAÇÃO E ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA**

Tese apresentada para obtenção do título de doutorado em Química, na Universidade Estadual de Ponta Grossa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química – Associação Ampla UEL/UEPG/UNICENTRO, Área de Química Analítica

Orientadora: Profa. Dra. Vanessa Egéa dos Anjos
Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Lurdes Felsner

PONTA GROSSA

2018

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

A553 Andrade, Jucimara Kulek de
 Especiação de antimônio em amostras de
 água mineral e especiação de cromo em
 águas naturais empregando métodos de
 microextração e espectrometria de absorção
 atômica/ Jucimara Kulek de Andrade. Ponta
 Grossa, 2018.
 189f.

 Tese (Doutorado em Química - Área de
 Concentração: Química Analítica), UEL,
 UEPG e UNICENTRO.

 Orientadora: Prof^a Dr^a Vanessa Egéa dos
 Anjos.

 Coorientadora: Prof^a Dr^a Maria Lurdes
 Felsner.

 1.Especiação. 2.Antimônio. 3.Cromo.
 4.Ponto nuvem. 5.UAEME. I.Anjos, Vanessa
 Egéa dos. II. Felsner, Maria Lurdes. III.
 UEL. UEPG. UNICENTRO. Doutorado em
 Química. IV. T.

CDD: 543

TERMO DE APROVAÇÃO

JUCIMARA KULEK DE ANDRADE

“ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS DE ÁGUA MINERAL E ESPECIAÇÃO DE CROMO EM ÁGUAS NATURAIS EMPREGANDO MÉTODOS DE MICROEXTRAÇÃO E ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA”.

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Química Associação Ampla UEL/UEPG/UNICENTRO da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

Orientador:


Profa. Dra. Vanessa Egéa dos Anjos
UEPG/PR


Profa. Dra Maria Lurdes Felsner
UNICENTRO/PR


Profa. Dra. Patrícia Los Weinert
UEPG/PR


Profa. Dra. Elizabeth Weinhardt de Oliveira Scheffer
UEPG/PR


Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi
UFPR/PR


Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley
UEL/PR

Ponta Grossa, 22 de fevereiro de 2018.

Dedico aos meus pais, Maria Avani e Juarez,
minha irmã Camila e ao André.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pelo dom da vida.

À minha família, principalmente à minha mãe Maria Avani, meu pai Juarez, minha irmã Camila e ao André, pelo apoio, incentivo e por estarem sempre ao meu lado me dando forças para alcançar meus objetivos.

À minha orientadora Profa. Dra. Vanessa Egéa dos Anjos e minha co-orientadora Profa. Dra. Maria Lurdes Felsner, pela orientação, ajuda, apoio incondicional, pelos ensinamentos e dedicação concedidos durante todo o doutorado, e por terem acreditado e confiado em mim para que a realização deste trabalho fosse possível.

Aos professores Dra. Elizabeth Weinhardt Scheffer e Dr. César Ricardo Teixeira Tarley, pelas contribuições concedidas no exame de qualificação da tese.

Aos professores Dr. Marco Tadeu Grassi, Dra. Elizabeth Weinhardt Scheffer, Dra. Patrícia Los Weinert e Dr. César Ricardo Teixeira Tarley, por terem aceito fazer parte da banca de defesa e pelas contribuições concedidas na defesa da tese.

Aos meus amigos, principalmente a Daniele Seremeta, Francielli Monteiro, Elenice Caetano, Renata Martins, Fernando Ratuchne e Lidiane Yumi, pela amizade, companheirismo e por sempre torcerem e me apoiarem.

Aos colegas do laboratório, do grupo de Pesquisa LabGati e do Grupo de Pesquisa LEQQA, ao qual faço parte.

À todos que contribuíram nas etapas do trabalho, principalmente, à Camila Kulek, minha irmã, pela grande contribuição experimental e científica durante todo o trabalho e à Francielli Monteiro pela ajuda nas análises de digestão por microondas.

À Camila Kulek, André Gabriel, Francielli Monteiro, Elenice Caetano, Renata Martins, profa Elaine Tiburtius, Vitor Sena, Arianne Ribicki, Nathany Chiquito pela ajuda na coleta e aquisição das amostras.

Ao C-Labmu, onde foram realizadas as análises.

À Unicentro e ao Laboratório LabGati, por permitir a realização de algumas etapas do trabalho.

À Capes pela bolsa concedida.

Ao CNPq/Proc. 448270/2014-5 pelo financiamento da pesquisa.

À UEPG e o Programa de Doutorado Associado em Química UEL/UEPG/UNICENTRO, por permitirem que este trabalho pudesse ser desenvolvido.

À todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, meu muito obrigada.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

RESUMO

O antimônio e o cromo são elementos presentes no ambiente de forma natural ou decorrente de atividades antrópicas. O comportamento, biodisponibilidade, toxicidade e transporte desses elementos são dependentes das suas formas específicas, ou seja, sua especiação. Assim, é importante conhecer as diferentes espécies do elemento em um meio específico. O presente trabalho teve por objetivo implantar e validar em laboratório protocolos analíticos para o estudo da especiação de Sb e Cr em amostras de água mineral e natural, empregando técnicas de extração com detecção por espectrometria atômica. A especiação de Sb por extração por ponto nuvem envolveu a extração seletiva de Sb(III) em pH 2, com pirrolidina ditiocarbamato de amônio – APDC (complexante) em meio de surfactante (Triton X-114). A determinação do teor total de Sb foi realizada pelo mesmo procedimento, após redução do Sb(V) para Sb(III) usando L-cisteína. Um amplo estudo da presença de Sb(III) e Sb(V) em amostras brasileiras de água mineral envasadas em PET foi realizado. A concentração média de Sb(total) para 39 amostras recentemente envasadas foi de $4 \pm 1,4 \mu\text{g L}^{-1}$, sendo que 70% das amostras estão dentro dos limites aceitáveis pela ANVISA ($5,0 \mu\text{g L}^{-1}$). A espécie majoritária nas amostras foi o Sb(III) com 53 a 79% do teor total de Sb, sugerindo a migração do Sb_2O_3 do PET para a bebida. Um estudo foi conduzido com cinco marcas de água mineral envasada e analisadas durante seis meses. O teor de Sb(total) na água mineral aumentou de 2 a 27% após 6 meses de estocagem. Esses resultados indicam que ocorre a migração do Sb presente no PET para a bebida engarrafada. A migração do Sb do PET para água mineral foi avaliada sob diferentes condições de armazenamento (tempo, temperatura, exposição solar) usando a própria bebida como simulante e com simulantes alimentícios (água ultrapura e solução ácida). Nesses ensaios, observou-se um aumento de até 214% do teor de Sb quando a temperatura de armazenamento aumentou até 80°C. Um aumento de 323% foi observado quando as amostras foram expostas por 7 dias à radiação solar e de até 600% com simulante ácido acético por 10 dias. Com relação à distribuição das espécies, a espécie que apresentou aumento mais significativo foi de Sb(III). A especiação de Cr por emulsificação assistida por ultrassom envolveu a extração seletiva do Cr(VI) e pré-concentração com tributilfosfato (TBP) (solvente extrator orgânico), em meio de HCl e NaCl. A dispersão da solução extratora foi realizada com banho ultrassônico em substituição a um solvente dispersor. A determinação do teor total de Cr(III) foi realizada pelo mesmo procedimento, após oxidação do Cr(III) para Cr(VI) usando KMnO_4 . Um estudo de especiação de Cr em amostras de água natural do Oeste, Centro-Oeste e Campos Gerais do Estado do Paraná, Brasil foi realizado. As concentrações totais de Cr foram inferiores a $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$, portanto, compatíveis com águas não contaminadas. O Cr dissolvido foi a maior fração para as amostras, indicando que o Cr pode ter uma maior capacidade de mobilidade e possível biodisponibilidade nessas águas. Com relação à distribuição do Cr na fração dissolvida, a fração majoritária foi de Cr(VI). Esta é a espécie mais tóxica e forma mais esperada em águas naturais oxigenadas. A variabilidade nos resultados mostra a necessidade de monitoramento das concentrações totais desses elementos e sua especiação, nos ambientes aquáticos e águas engarrafadas, como forma avaliar sua toxicidade e garantir a segurança social e ambiental.

Palavras-chave: Especiação, antimônio, cromo, ponto nuvem, UAEME, água

ABSTRACT

Antimony and chromium are elements present in the environment naturally or due to anthropic activities. The behavior, bioavailability, toxicity and transport of these elements are dependent on their specific forms, i.e., their speciation. Thus, it is important to know the different species of this element in a specific medium. Thereby, this work proposes to implement and validate in laboratory analytical protocols for the study of Sb and Cr speciation in mineral and natural water, employing extraction technique with detection by atomic absorption. The Sb speciation by cloud point extraction involved the selective extraction of Sb(III) at pH 2, with ammonium pyrrolidinedithiocarbamate - APDC (complexing agent) in surfactant medium (Triton X-114). By the same procedure was performed the determination of the total Sb content, however after reduction of Sb (V) to Sb (III) using L-cysteine. This protocol made possible an extensive study of the presence of Sb(III) and Sb(V) in Brazilian samples of bottled mineral water with PET. The mean concentration of Sb (total) for 39 freshly packaged samples was $4 \pm 1.4 \mu\text{g L}^{-1}$, and 70% of the samples were within the limits acceptable by ANVISA ($5.0 \mu\text{g L}^{-1}$). The majority species in the samples was Sb(III) with 53 to 79% of the total Sb content, suggesting the migration of Sb_2O_3 from PET to the beverage. With five brands of bottled mineral water was conducted a study, with samples analyzed for six months. Sb(total) content in mineral water increased from 2 to 27% after 6 months of storage. These results indicate that migration of the Sb present in the PET to the bottled beverage occurs. The migration of Sb from PET to mineral water was evaluated under different storage conditions (time, temperature, sun exposure) using the beverage as simulant and with food simulants (ultrapure water and acid solution). In these tests, when storage temperature increased to 80°C was observed an increase of up to 214% in Sb content. When samples were exposed for 7 days to solar radiation was observed an increase of up to 323% in Sb content and when packaging were maintained for 10 days with acetic acid simulant was observed an increase of up to 600%. Regarding the distribution of species, the species that presented the most significant increase was Sb(III). The Cr speciation by ultrasound emulsification microextraction involved the selective extraction of Cr (VI) and preconcentration with organic extractor solvent, tributylphosphate (TBP), in HCl and NaCl medium. . It was performed the dispersion of the extractive solution with an ultrasonic bath in place of a dispersing solvent. By the same procedure, the determination of the total Cr(III) content was performed, but after oxidation of Cr(III) to Cr(VI) using KMnO_4 . A Cr speciation study in samples of natural water from the West, Center-West and Campos Gerais from the State of Paraná, Brazil was carried out. The total concentrations of Cr were less than $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$, therefore, these levels are compatible with uncontaminated water. Cr dissolved was the largest fraction for the samples, indicating that Cr may have a greater mobility capacity and possible bioavailability in these waters. Regarding the distribution of Cr in the dissolved fraction, the majority fraction was Cr(VI). This is the more toxic specie and more expected form in oxygenated natural waters. The variability in the results shows the need for monitoring of the total concentrations of these elements and their speciation in aquatic environments and bottled waters, as a way to evaluate their toxicity and guarantee social and environmental security.

Keywords: Speciation, antimony, chromium, cloud point, UAEME, water

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1.	Etapas de formação do ponto nuvem com extração da espécie de interesse e separação para determinação da sua concentração.....	41
Figura 2.2.	Representação geral da micela, com incorporação do complexo formado....	42
Figura 2.3.	Etapas de extração de elementos pela técnica de DLLME.....	44
Figura 3.1.	Estrutura química geral do ditiocarbamato e formas ressonantes.....	47
Figura 3.2.	Representações gerais das reações de formação do complexo entre o ditiocarbamato e o metal.....	48
Figura 3.3.	Estrutura química do APDC e formas ressonantes.....	49
Figura 3.4.	Mecanismo de decomposição do APDC em meio aquoso ácido.....	50
Figura 3.5.	Estrutura química do Triton X, sendo n = 7-8 para Triton X-114 e n = 9-10 para Triton X-100.....	51
Figura 3.6.	Fotografia das diferentes colorações de embalagens PET das amostras de água mineral utilizadas na especiação de Sb.....	56
Figura 3.7.	Fluxograma do procedimento adotado na especiação de Sb empregando extração e pré-concentração por ponto nuvem e GF AAS.....	57
Figura 3.8.	Fotografias representativas das etapas da técnica de extração por ponto nuvem. (a) Solução contendo analito, complexante (APDC) e surfactante (Triton X) após aquecimento e com formação do ponto nuvem. (b) Separação de uma fase rica e outra fase pobre em surfactante obtida após centrifugação e banho de gelo 4°C.....	57
Figura 3.9.	Resultados obtidos na otimização das etapas de pirólise e atomização do programa de aquecimento do forno de grafite para Sb usando GF AAS. (—■—) sinal atômico e (—■—) sinal de fundo - background (BG) obtidos para uma solução contendo reagentes em condições similares ao ponto nuvem.....	66
Figura 3.10.	Influência do pH na complexação de 15,0 µg L ⁻¹ de Sb(III) (■) e de 15,0 µg L ⁻¹ de Sb(V) (●) por APDC e formação do ponto nuvem.....	70
Figura 3.11.	Avaliação do pH adequado para extração por ponto nuvem e quantificação do Sb(total). As letras a e b representam o teste Tukey em um nível de 95% de confiança.....	72

Figura 3.12. Gráfico de Pareto obtido para o planejamento Fatorial 2^2 com ponto central, com os valores de t para (A) Triton X-114, (B) APDC e (AB) interação de Triton X-114*APDC.....	74
Figura 3.13. Resultados dos testes realizados na avaliação da redução $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(V) para Sb(III) com diferentes condições experimentais e posterior extração por ponto nuvem e GF AAS. A) 0,5% (m/v) de L-cisteína e aquecimento por 15 min., B) 1,0% (m/v) de L-cisteína e aquecimento por 15 min. e C) 1,0% (m/v) de L-cisteína e sem aquecimento.....	75
Figura 3.14. Estudo da influência da matriz na determinação de Sb após EPN, por meio da avaliação de diferentes curvas analíticas: (a) pré-concentradas e sem pré-concentração e (b) sem pré-concentração.....	77
Figura 3.15. Recuperação de (■) Sb(III) e (□) Sb(total) para amostras de água mineral envasada em PET e em vidro, água de torneira e água de rio, para dois níveis de concentração de Sb: (a) Solução contendo $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie (Sb(III) e Sb(V)) e (b) Solução contendo $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie (Sb(III) e Sb(V)).....	82
Figura 3.16. Teores de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) determinados em água mineral comercial de acordo com o tempo de envase em garrafa PET.....	86
Figura 3.17. Distribuição percentual das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral avaliadas após diferentes tempos de envase.....	87
Figura 3.18. Concentração de Sb(total) determinada nas amostras de água mineral envasadas em embalagens PET. As linhas mostradas no gráfico, correspondem aos limites máximo de Sb(total) adotados pelas legislações..	90
Figura 3.19. Número de amostras presente em cada faixa de concentração estabelecida pela legislação.....	91
Figura 3.20. (a) Concentração de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral avaliadas e (b) distribuição percentual de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) em relação ao teor de Sb(total) presente nas amostras.....	92
Figura 3.21. (a) Concentração de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral de lotes iguais e lotes diferentes para os fabricantes (B e C) e (b) distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras. A amostra B1 e C1 foram avaliadas em 3 réplicas verdadeiras para mesmo lote.....	95

Figura 3.22. Concentração de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral envasada em garrafas PET de diferentes volumes para dois fabricantes (B e C) e (b) distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras.	96
Figura 3.23. Concentrações médias de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral envasada em garrafas PET de diferentes colorações para embalagens de 300-350 mL e 500-510 mL e (b) distribuição média das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras. T significa translúcido e O significa opaco.....	97
Figura 3.24. Concentrações de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral natural (A3, B5 e C7) e gaseificada (A4, B7 e C12) envasada em garrafas PET e (b) distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras.	99
Figura 3.25. Avaliação da influência da temperatura na migração de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) de embalagens PET para água mineral para ensaios com tempos de (a) 30 minutos e (b) 60 minutos.....	101
Figura 3.26. Aumento percentual de Sb nas amostras avaliadas de acordo com o aumento de temperatura para (■) 30 minutos e (●) 60 minutos.....	102
Figura 3.27. Distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) em água mineral em diferentes temperaturas (18 a 80°C), durante (a) 30 minutos e (b) 60 minutos.....	103
Figura 3.28. Avaliação do teor de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) em água mineral em função das diferentes condições de armazenagem. 4°C corresponde a temperatura que a amostra foi mantida na geladeira.....	105
Figura 3.29. Porcentagem de aumento do teor de Sb nas amostras avaliadas de acordo com o tempo, para cada condição de armazenamento estudada: (■) amostra mantida na geladeira (4°C), (●) amostra à temperatura ambientes e (▲) amostra submetida à radiação solar.....	106
Figura 3.30. Distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) em água mineral sob diferentes condições de armazenamento.....	107
Figura 3.31. Concentração das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) no estudo de migração de Sb a partir da garrafa PET para simulantes (a) água ultrapura e (b) solução de ácido acético (3,0 % v/v).....	109
Figura 3.32. Teor percentual de aumento de Sb em (a) água ultrapura e (b) solução de ácido acético (3,0 %, v/v), para os fabricantes (■) A, (○) B e (▲) C.....	110

Figura 3.33. Distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) no estudo de migração de Sb a partir da garrafa PET para (a) água ultrapura e (b) solução de ácido acético (3,0 % v/v).....	111
Figura 4.1. Estrutura química do tributilfosfato (TBP) utilizado na extração e pré-concentração de Cr por microextração por emulsificação assistida por ultrassom.....	116
Figura 4.2. Fluxograma do procedimento de extração e pré-concentração por UAEME para especiação de Cr(III) e Cr(VI) empregando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite.....	120
Figura 4.3. Fotografia das embalagens PET das amostras de água mineral utilizadas na especiação de Cr.....	127
Figura 4.4. Representação dos locais de coleta das amostras de água natural. (a) Cidades dos locais de coleta (b) Locais de Coleta da Região de Guarapuava, (c) Locais de coleta na Região de Ponta Grossa e (d) Local de coleta na cidade de Santa Terezinha de Itaipu.....	129
Figura 4.5. Resultados obtidos na otimização das etapas de pirólise e atomização do programa de aquecimento do forno de grafite para Cr usando GF AAS, sendo: (a) (—■—) Sinal atômico e (—■—) sinal de fundo (BG) para solução da fase orgânica obtida por UAEME contendo Cr (15,0 µg L ⁻¹), TBP, HNO ₃ e metanol.....	132
Figura 4.6. Extração de espécies de cromo Cr(VI) e Cr(III) pelo método de UAEME usando TBP como agente extrator.....	134
Figura 4.7. Efeito do pH no percentual de recuperação de Cr(VI) representado em preto e Cr(III) representado em cinza em concentração de 5,0 µg L ⁻¹ em fase orgânica. As condições experimentais são descritas no procedimento. A barra de erros indica o desvio padrão das medidas (n=3).....	135
Figura 4.8. Gráfico de (A) superfície de resposta e (B) de contorno para a interação Conc. HCl*Conc. NaCl; (C) superfície de resposta e (D) de contorno para a interação Conc. HCl*Volume de TBP; e (E) superfície de resposta e (F) de contorno para a interação Conc. NaCl*Volume de TBP.....	140
Figura 4.9. Avaliação de diferentes curvas analíticas para determinação de Cr por padronização externa. (a) Curvas analíticas de Cr pré-concentrada e sem pré-concentração e (b) Curvas de Cr sem pré-concentração.....	143

Figura 4.10. Recuperação de (□) Cr(total) e (■) Cr(VI) para amostras de água mineral, água de torneira e água natural, para três níveis de concentração (20,0 ng L ⁻¹ , 2,0 µg L ⁻¹ e 10,0 µg L ⁻¹).....	148
Figura 4.11. Concentração de Cr(total) determinada em amostras de água mineral envasadas em embalagens PET. As linhas são os valores para as Legislações da USEPA (100,0 µg L ⁻¹) e WHO (50,0 µg L ⁻¹).....	151
Figura 4.12. (a) Concentração e (b) distribuição das espécies de (■) Cr(VI) e (□) Cr(III) nas amostras de água mineral avaliadas.....	153
Figura 4.13. Fotografias dos locais de amostragem das cidades de Guarapuava (R1 a R4), Ponta Grossa (R5 a R7) e Santa Terezinha de Itaipu (R8). R1 é uma amostra coletada em um curtume situado na região da Guarapuava, e a fotografia mostrada refere-se à localização obtida por https://www.google.com.br/maps	155
Figura 4.14. Relação entre os parâmetros concentrações de (a) íons cloreto, (b) COD e (c) SST nas amostras de água natural avaliadas em função do pH.....	160
Figura 4.15. Distribuição de (■) Cr(VI), (□) Cr(III) e (■) Cr particulado nas amostras de água natural, em relação à concentração total de Cr obtida nas amostras..	163
Figura 4.16. Gráfico do log de K _D por teor de sólidos suspensos totais (SST) nas amostras de água natural avaliadas.....	165
Figura 4.17. Comportamento das espécies de (●) Cr(III) e (●) Cr(VI) nas amostras de água natural avaliadas, em função do pH das amostras.....	166
Figura 4.18. Relação entre os teores de COD e Cr(III) presente nas amostras de água natural avaliadas.....	167
Figura 4.19. (a) Gráfico de pesos e (b) gráfico de escores para a PC1 e PC2 obtidas com a análise multivariada dos dados para água natural.....	169

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1.	Informações das amostras de água mineral utilizadas na especiação de Sb por EPN e determinação por GF AAS.....	55
Tabela 3.2.	Planejamento fatorial 2^2 com ponto central utilizado no estudo das condições experimentais para formação do PN e extração de Sb(III).....	59
Tabela 3.3.	Condições diferentes de preparo das curvas analíticas para determinação de Sb por EPN e GF AAS.....	60
Tabela 3.4.	Programa de aquecimento do forno de grafite otimizado para determinação de Sb por GF AAS.....	67
Tabela 3.5.	Estudo do tipo de surfactante na formação do ponto nuvem na análise de especiação de Sb e determinação por GF AAS.....	68
Tabela 3.6.	Condições de análise e resultado do planejamento fatorial 2^2 com ponto central para avaliação do surfactante e agente complexante na formação do PN para especiação de Sb(III).....	73
Tabela 3.7.	Equações das curvas analíticas para determinação de Sb e os erros dos coeficientes obtidos.....	77
Tabela 3.8.	Resultados da análise de regressão linear e teste de falta de ajuste em um nível de 95% de confiança para o estudo de linearidade da curva analítica para quantificação de Sb.....	78
Tabela 3.9.	Resultados do estudo de precisão para Sb(III) e Sb(total) por EPN e GF AAS.....	80
Tabela 3.10.	Especiação de Sb(III) e Sb(V) em amostras de água mineral.....	89
Tabela 3.11.	Taxa de ingestão diária crônica (IDC) para consumo de Sb pelo ser humano	113
Tabela 4.1.	Variáveis e níveis testados na RCCD para avaliação das condições de extração de Cr por UAEME.....	122
Tabela 4.2.	Diferentes condições de preparo das curvas analíticas para determinação de Cr por GF AAS.....	124
Tabela 4.3.	Informações das amostras de água mineral utilizadas na especiação de Cr por DLLME e determinação por GF AAS.....	126
Tabela 4.4.	Informações referentes às amostras de água natural coletadas.....	128
Tabela 4.5.	Programa de aquecimento do forno de grafite otimizado para determinação de Cr após procedimento de UAEME e determinação por GF AAS.....	133

Tabela 4.6. Matriz do planejamento de RCCD e porcentagem de recuperação encontrada para o Cr extraído pelo procedimento de UAEME.....	137
Tabela 4.7. Análise de variância (ANOVA) para o modelo quadrático de superfície de resposta para extração de Cr(VI) por UAEME.....	138
Tabela 4.8. Resultados para recuperação de Cr(total), no estudo de avaliação do uso de agente oxidante na extração de Cr por UAEME e comparação com a técnica sem pré-concentração.....	142
Tabela 4.9. Equações de reta das curvas analíticas obtidas na calibração instrumental da técnica GF AAS empregada na determinação de Cr e dados obtidos para o Teste de Tukey.....	144
Tabela 4.10. Resultados da análise de regressão linear e teste de falta de ajuste em um nível de 95% de confiança para o estudo de linearidade.....	145
Tabela 4.11. Resultados do estudo de precisão para Cr(VI) e Cr(total) por UAEME e GF AAS.....	146
Tabela 4.12. Resultados para recuperação de Cr (%) pelo método de UAEME e por determinação por GF AAS, sem pré-concentração.....	150
Tabela 4.13. Concentrações de Cr(total), Cr(III) e Cr(VI) determinados em amostras de água mineral empregando o procedimento proposto (UAEME aliada a GF AAS).....	151
Tabela 4.14. Resultados de parâmetros de caracterização das amostras de água natural coletadas nas diferentes cidades do Paraná.....	158
Tabela 4.15. Concentração de Cr nas amostras de água natural coletadas na região do Paraná.....	162
Tabela 4.16. Escores das variáveis pH, íons Cl ⁻ , SST, COD, Cr(total), Cr(total) dissolvido, Cr particulado, Cr(VI), Cr(III).....	169

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AH	Ácido húmico
AF	Ácido fúlvico
AFS	Espectroscopia atômica de fluorescência, do inglês <i>Atomic fluorescence spectroscopy</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APDC	Pirrolidina ditiocarbamato de amônio, do inglês <i>Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate</i>
CMC	Concentração micelar crítica
EPN ou CPE	Extração por ponto nuvem, do inglês <i>Cloud point extraction</i>
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês <i>Dispersive liquid-liquid microextraction</i>
DLLME-SFO	Microextração líquido-líquido dispersiva com solidificação de gota flutuante, do inglês <i>Dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic drop</i>
RSD	Desvio padrão relativo, do inglês <i>Relative standard deviation</i>
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
FAAS	Espectrometria de absorção atômica em chama, do inglês <i>Flame atomic absorption spectrometry</i>
GC	Cromatografia a Gás, do inglês <i>Gas Chromatography</i>
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, do inglês <i>Graphite furnace atomic absorption spectrometry</i>
HCl	Ácido clorídrico
HG FAAS	Espectrometria de absorção atômica em chama com gerador de hidretos, do inglês <i>Hydride generation flame atomic absorption spectrometry</i>
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês <i>High performance liquid chromatography</i>
HPLC-ICP-MS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma Acoplado Indutivamente, do inglês <i>High performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry</i>

IARC	Agência Internacional para a Pesquisa em Câncer, do inglês <i>International Agency for Research on Cancer</i>
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>Inductively coupled plasma mass spectrometry</i>
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
ID	Ingestão diária
IDC	Ingestão diária crônica
IE	Interferente endócrino
IL-DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva com líquidos iônicos, do inglês <i>Ionic liquid disperse liquid-liquid microextraction</i>
LOD	Limite de detecção, do inglês <i>limit of detection</i>
LLE	Extração líquido-líquido, do inglês <i>Liquid-liquid extraction</i>
LOQ	Limite de quantificação, do inglês <i>limit of quantification</i>
MC	Massa corpórea
MON	Matéria Orgânica Natural
PET	Politereftalato de etileno
PN	Ponto nuvem
RCCD	Planejamento Composto Central Rotacional do inglês <i>Rotatable Central Composite Design</i>
SPE	Extração em Fase Sólida, do inglês <i>Solid phase extraction</i>
TBP	Tributilfosfato, do inglês <i>tributylphosphate</i>
TOC	<i>Total organic carbon</i> (carbono orgânico total)
UAEME	Microextração por emulsificação assistida por ultrassom, do inglês <i>Ultrasound-assisted emulsification microextraction</i>
UE	União Européia
UP	Ulapura
US-DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom, do inglês <i>Ultrasond-assisted dispersive liquid-liquid microextraction</i>
U. S. EPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês <i>United States Environmental Protection Agency</i>
UV	Ultra-violeta
WHO	Organização Mundial da Saúde, do inglês <i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	21
1.1 INTRODUÇÃO.....	21
1.2 OBJETIVOS.....	24
1.2.1 Objetivos Gerais.....	24
1.2.2 Objetivos Específicos.....	24
CAPÍTULO 2 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	25
2.1 ANTIMÔNIO.....	26
2.1.1 Características e ocorrência de Sb no ambiente e sistemas aquáticos naturais..	26
2.1.2 Toxicidade, uso e presença de Sb em água mineral engarrafada em PET.....	28
2.2 CROMO.....	32
2.2.1 Características, toxicidade e presença de Cr no ambiente e em meio aquoso...	32
2.2.2 Presença de Cr em ambientes aquáticos.....	33
2.3 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO E ESPECIAÇÃO DE ELEMENTOS....	38
2.3.1 Métodos de determinação de Sb e Cr em água.....	38
2.3.1.1 Extração por ponto Nuvem.....	40
2.3.1.2 Microextração Líquido-Líquido Dispersiva.....	43
CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO INORGÂNICO EM AMOSTRAS DE ÁGUA MINERAL ENVASADAS EM EMBALAGENS DE POLITEREFTALATO DE ETILENO (PET).....	47
3.1 INTRODUÇÃO.....	47
3.2 PARTE EXPERIMENTAL.....	53
3.2.1 Procedimento de Técnicas Limpas, Reagentes e Instrumentação.....	53
3.2.2 Amostras.....	54
3.2.3 Procedimento Geral Empregado na Análise de Especiação de Sb por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização eletrotérmica em Forno de Grafite (GF AAS) e Extração e Pré-concentração por PN.....	56
3.2.3.1 Avaliação do programa de aquecimento do forno de grafite na determinação de Sb por GFAAS extraído por PN.....	58
3.2.3.2 Avaliação das condições de extração e pré-concentração de Sb por ponto nuvem (EPN).....	58

3.2.3.3	Estudo do processo de redução química de Sb(V) para Sb(III) na quantificação da concentração total de Sb através da extração por PN e GF AAS.....	59
3.2.4	Avaliação de Parâmetros de Mérito do Procedimento utilizado na Especificação de Sb.....	60
3.2.4.1	Calibração, linearidade e fator de enriquecimento (FE).....	60
3.2.4.2	Limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para determinação de Sb por EPN.....	61
3.2.4.3	Precisão.....	61
3.2.4.4	Estudo de interferência de íons.....	61
3.2.4.5	Exatidão.....	61
3.2.5	Avaliação da Especificação de Sb em Amostras Brasileiras de Água Mineral Envasadas em Embalagens PET e Estudos de Migração.....	62
3.2.5.1	Determinação da concentração total de Sb em embalagens PET.....	62
3.2.5.2	Determinação de Sb(III) e Sb(V) nas amostras de água mineral.....	63
3.2.5.3	Avaliação da influência das condições de armazenamento na migração de Sb de embalagens PET e sua especificação em água mineral.....	63
3.2.5.4	Avaliação da migração de Sb de embalagens PET e sua especificação em simulantes.....	64
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
3.3.1	Otimização das Condições de Análise de Amostras Pré-Concentradas por PN.....	65
3.3.2	Estudo do Surfactante Utilizado na Extração do Sb por PN.....	68
3.3.3	Influência do pH na Extração de Sb por Ponto Nuvem.....	69
3.3.4	Efeito da Concentração do Surfactante e do Complexante na Formação do PN para Determinação de Sb por GF AAS.....	72
3.3.5	Estudo do Processo de Redução Química de Sb(V) para Sb(III) para Quantificação do Teor Total de Sb através da Extração por PN e GF AAS.....	75
3.3.6	Avaliação de Parâmetros de Mérito do Procedimento utilizado na Especificação de Sb.....	76
3.3.6.1	Calibração, linearidade e fator de enriquecimento (FE).....	76
3.3.6.2	Limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ).....	80
3.3.6.3	Precisão.....	80

3.3.6.4	Estudo de interferência de íons.....	81
3.3.6.5	Exatidão.....	81
3.3.7	Avaliação da Especiação de Sb em Amostras Brasileiras de Água Mineral Envasadas em Embalagens PET e Estudos de Migração.....	83
3.3.7.1	Determinação da concentração total de Sb em embalagens PET.....	83
3.3.7.2	Avaliação da migração de Sb de embalagens PET para água mineral engarrafada.....	85
3.3.7.3	Estudo da presença de Sb em água mineral engarrafada em PET.....	88
3.3.7.3.1	Avaliação da influência de diferentes fatores na concentração e especiação de Sb em água mineral.....	94
3.3.7.4	Avaliação da influência da temperatura e radiação solar na migração de Sb de embalagens PET para água mineral.....	100
3.3.7.5	Estudo da migração específica de Sb a partir da embalagem PET usada no envase de água mineral empregando simulantes.....	108
3.3.8	Estimativa de ingestão diária crônica de Sb.....	112
CAPÍTULO 4 - ESPECIAÇÃO DE CROMO EM AMOSTRAS DE ÁGUA USANDO MICROEXTRAÇÃO POR EMULSIFICAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM.....		115
4.1	INTRODUÇÃO.....	115
4.2	PARTE EXPERIMENTAL.....	119
4.2.1	Procedimento de Técnicas Limpas, Reagentes e Instrumentação.....	119
4.2.2	Especiação de Cr empregando microextração por emulsificação assistida por ultrassom.....	119
4.2.2.1	Procedimento Geral.....	119
4.2.2.2	Avaliação do Programa de Aquecimento do Forno de Grafite na Determinação de Cr por GF AAS.....	121
4.2.2.3	Estudo da seletividade do TBP para extração de Cr(VI).....	121
4.2.2.4	Avaliação da influência do pH na extração de Cr(VI) por UAEME.....	121
4.2.2.5	Otimização da concentração de HCl e NaCl e volume de TBP para a extração de Cr(VI) usando UAEME por Planejamento Composto Central Rotacional.....	122
4.2.2.6	Pré-concentração e Extração de Cr(total) após oxidação de Cr(III) para Cr(VI).....	123
4.2.3	Estudo de Validação do Procedimento Utilizado na Especiação de Cr.....	123

4.2.3.1	Calibração, linearidade e fator de enriquecimento.....	123
4.2.3.2	Limite de Detecção (LOD) e Quantificação (LOQ) para determinação de Cr por UAEME.....	124
4.2.3.3	Precisão.....	124
4.2.3.4	Estudo de interferência de íons.....	125
4.2.3.5	Exatidão.....	125
4.2.4	Especiação de Cr em amostras de água mineral Brasileiras engarrafadas em PET.....	126
4.2.5	Especiação de Cr em amostras de água superficial coletadas em diferentes regiões do Paraná.....	127
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	132
4.3.1	Otimização do programa de aquecimento do forno de grafite.....	132
4.3.2	Seletividade do agente extrator usado na UAEME para extração de Cr(VI).....	134
4.3.3	Estudo da influência do pH na extração de Cr por UAEME.....	135
4.3.4	Otimização da concentração de HCl e NaCl e volume de TBP para a extração de Cr(VI) usando UAEME por Planejamento Composto Central Rotacional	136
4.3.5	Avaliação do processo de oxidação de Cr(III) para Cr(VI).....	141
4.3.6	Estudo de validação <i>in house</i> do protocolo analítico de UAEME para extração e pré-concentração de Cr.....	143
4.3.6.1	Avaliação da forma de calibração, linearidade e fator de enriquecimento do protocolo analítico de UAEME para extração e pré-concentração de Cr.....	143
4.3.6.2	Limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para especiação de Cr usando UAEME e determinação por GF AAS.....	146
4.3.6.3	Precisão.....	146
4.3.6.4	Estudo de interferência de íons.....	147
4.3.6.5	Exatidão.....	148
4.3.7	Especiação de cromo em amostras de água mineral usando extração por UAEME e determinação por GF AAS.....	150
4.3.8	Especiação de Cr em amostras de água natural da Região do Paraná e avaliação da qualidade de água.....	155
	CONCLUSÕES.....	172
	REFERÊNCIAS.....	174

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUÇÃO

A água potável é uma fonte importante para a manutenção da vida humana, atuando nas funções corporais, transporte de nutrientes para as células e hidratação do corpo (MARCINKOWSKA, LORENC e BARALKIEWICZ, 2017). A água pode conter em sua composição elementos essenciais à sobrevivência dos seres vivos, bem como elementos considerados tóxicos, sendo que a ação no organismo dependerá da sua concentração e forma química. Dentre esses elementos, é possível destacar o antimônio (Sb) e o cromo (Cr). Os elementos como o Sb e o Cr podem ser encontrados no ambiente de forma natural ou decorrente de atividades antrópicas, tais como processos industriais, metalúrgicos, bem como em embalagens plásticas, as quais podem entrar em contato com a água, tornando-se fonte de contaminação (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

A biodisponibilidade, toxicidade ou essencialidade de Sb e Cr para os seres humanos está associada às diferentes espécies e concentração desses elementos presentes no meio (HU, CAI e JIANG, 2016; SAPUTRO et al., 2014). Diante disso, é importante conhecer as diferentes formas de um elemento em uma matriz específica, ou seja, sua especiação, como forma de poder estimar sua toxicidade.

O Sb poder ser encontrado no ambiente sob diferentes estados de oxidação, sendo as formas principais, o Sb(III) e Sb(VI), em que Sb(III) apresenta maior toxicidade. Esse elemento não apresenta função biológica conhecida no organismo humano, sendo assim, considerado tóxico (WU et al., 2011). Além disso, vem sendo utilizado no processamento de embalagens PET, sendo adicionado como catalisador, na forma de Sb_2O_3 , na produção deste polímero (BACH et al., 2012; CARNEADO et al., 2015; FERREIRA e MORITA, 2010; KIYATAKA et al., 2017; SHAKERIAN et al., 2014). Dessa forma, as embalagens são utilizadas pelas indústrias, entre outras aplicações, para envase de alimentos e bebidas, como a água mineral (CARNEADO et al., 2015; JESUS et al., 2016). A água mineral é engarrafada em embalagens plásticas e pode permanecer por meses envasada, antes do consumo. Com isso, é importante considerar se o material da embalagem pode afetar a qualidade da água consumida (MARCINKOWSKA, LORENC e BARALKIEWICZ, 2017). Diante disso, existe uma preocupação da comunidade científica quanto à possível lixiviação de Sb a partir da embalagem PET para a água mineral. Estudos para avaliação da presença de Sb em água mineral, bem como dos fatores que influenciam a lixiviação de Sb a partir da embalagem PET, vêm sendo

reportados na literatura (BACH et al., 2014; KERESZTES et al., 2009; MIHUCZ e ZÁRAY, 2016; PAYÁN et al., 2017; REIMANN, BIRKE e FILZMOSE, 2010; 2012; SHOTYK e KRACHLER, 2007; WESTERHOFF et al., 2008).

O Cr pode ser encontrado no ambiente em diferentes formas e espécies, principalmente como Cr(III) e Cr(VI). O Cr(III) é essencial para os seres vivos, sendo que em excesso pode apresentar toxicidade, enquanto o Cr(VI) é considerado tóxico, podendo ser carcinogênico (CHEN et al., 2010; HEMMATKHAH et al., 2009; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; MARKIEWICZ et al., 2015). O Cr é um elemento que apresenta uma grande aplicabilidade, em indústrias têxteis, metalúrgica e curtume (HEMMATKHAH et al., 2009; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; PORTO et al., 2017; SHARID et al., 2017; SUSSULINI e ARRUDA, 2006). A ampla aplicabilidade do Cr em atividades antrópicas, pode gerar uma preocupação quanto à poluição ambiental. Isso porque, os rejeitos químicos descartados, provindo dessas atividades podem se acumular no ambiente (água, ar e solo), tornando-se uma fonte de contaminação. Dessa forma, o Cr pode entrar na cadeia alimentar principalmente através do consumo da água e também por meio do consumo de alimentos, e dependendo da espécie presente e da concentração, pode promover uma potencial toxicidade aos seres humanos (CHEN et al., 2014; GARFÍ et al., 2016). Diante disso, estudos são reportados na literatura para especiação de Cr em água mineral engarrafada em PET, água natural superficial e subterrânea, e de torneira (CHEN et al., 2010; BAHADIR et al., 2016; KRACHLER e SHOTYK, 2009; LÓPEZ-GARCÍA, VICENTE-MARTÍNEZ, HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2012; MÄDLER et al., 2016; MARCINKOWSKA, KOMOROWICZ e BARAŁKIEWICZ, 2016). Dessa forma, o Sb e o Cr são elementos que embora apresentem características e estados de oxidação diferentes, podem ser encontrados em ambientes aquáticos. Esses dois contaminantes importantes também podem estar presentes em águas minerais, devido às embalagens, bem como ao processo de envase dessa bebida.

Assim, considerando a forma como esses elementos podem ser encontrados no ambiente aquático, bem como sua função bioativa ou potencial toxicidade para o ser humano, observa-se uma preocupação constante referente à presença desses elementos em água mineral e natural. Diante desses fatos torna-se importante determinar os níveis destes elementos nestas matrizes, bem como as diferentes espécies desses elementos que podem estar presentes na matriz, permitindo avaliar a potencial toxicidade associada às amostras avaliadas (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

No Brasil, estudos foram encontrados para especiação de Sb em água mineral armazenada em garrafas PET (SOUZA e TARLEY, 2008; VINHAL et al., 2016). Além disso,

existem estudos que demonstram que o Sb pode ser encontrado em garrafas PET comercializadas no Brasil, e que esse elemento pode ser lixiviado para amostras de água mineral que são engarrafadas nestas embalagens (JESUS et al., 2016; SHIMAMOTO et al., 2011). De uma forma geral, estudos referentes a lixiviação de Sb a partir de garrafas PET para água mineral são encontrados na literatura (FAN et al., 2014; HANSEN e PERGANTIS, 2006; HU, HE e LI, 2015; KERESZTES et al., 2009; REIMANN, BIRKE e FILZMOSER, 2012; RUNGCHANG et al., 2013; TUKUR et al., 2012; WESTERHOFF et al., 2008). Porém, a especiação de elementos como Sb e Cr ainda é um desafio no ambiente científico, considerando ainda, que não existe uma metodologia padrão para especiação desses elementos. Além disso, os valores de Sb e Cr recomendados na legislação são voltados para teores totais, não fazendo consideração ainda, quanto a sua especiação. Esses fatos reforçam a necessidade da busca por procedimentos que sejam rápidos, precisos, exatos, de baixo custo e ambientalmente corretos para especiação de elementos. Nesse sentido, é importante o desenvolvimento de metodologias que possam ser utilizadas com confiabilidade para especiação de Sb e Cr, em amostras de água, como forma de garantir a segurança e qualidade da vida humana.

Para tal, diante do contexto apresentado anteriormente, no presente trabalho, busca-se utilizar metodologias que sejam de fácil execução, economicamente viáveis e ambientalmente corretas para especiação de Sb e Cr em amostras de água mineral e natural. Além disso, para Sb busca-se realizar um panorama da especiação de Sb em amostras de água mineral brasileiras em comparação aos resultados obtidos para amostras internacionais. Para Cr busca-se ainda avaliar os teores de Cr e sua especiação em diversas amostras de água mineral e natural, como forma de conhecer o perfil das amostras analisadas com relação aos teores desse elemento. Assim o estudo da presença e especiação de Sb e Cr em amostras de águas minerais e naturais brasileiras é de grande relevância para avaliar a possível toxicidade apresentada pelas amostras devido à presença e distribuição das espécies metálicas, indicando se as mesmas podem proporcionar riscos à saúde humana. Assim o estudo da presença e especiação de Sb e Cr em amostras de águas minerais e naturais brasileiras é de grande relevância para avaliar a possível toxicidade apresentada pelas amostras devido à presença e distribuição das espécies metálicas, indicando se as mesmas podem proporcionar riscos à saúde humana.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivos Gerais

Avaliar a presença e a especiação de Sb e Cr em amostras de águas minerais e naturais brasileiras, como uma forma de estimar a possível toxicidade desses elementos, indicando se as mesmas podem proporcionar riscos à saúde humana. Para isso, buscou-se realizar a especiação de Sb e Cr nessas matrizes, empregando a Espectrometria de Absorção Atômica aliada a técnicas de separação e pré-concentração tais como extração por ponto nuvem e microextração por emulsificação assistida por ultrassom, por serem coerentes com os princípios de Química Verde e apresentarem custo relativamente baixo.

1.2.2 Objetivos Específicos

- i. Implantar e otimizar um protocolo analítico para especiação de Sb empregando extração e pré-concentração por ponto nuvem e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite;
- ii. Implantar e otimizar um protocolo analítico para especiação de Cr empregando microextração por emulsificação assistida por ultrassom e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite;
- iii. Validar em laboratório os procedimentos implantados através dos parâmetros de mérito (seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão, fator de pré-concentração) aliada a aplicação de ferramentas estatísticas;
- iv. Aplicar as metodologias desenvolvidas para especiação de Sb e Cr em amostras de água mineral e natural;
- v. Avaliar os fatores que influenciam na migração específica de Sb da embalagem plástica do tipo PET para a água mineral;
- vi. Avaliar as características físico-químicas das amostras de água natural, visando compreender o comportamento das espécies de Cr(III) e Cr(VI) na amostras avaliadas;
- vii. Avaliar a potencial toxicidade associada à presença de Sb e Cr nas amostras de águas avaliadas, como forma de garantir a qualidade das águas e segurança alimentar.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A água e os alimentos são essenciais à vida humana. Por meio dos alimentos são obtidos os nutrientes, tais como as proteínas, vitaminas, lipídeos, minerais, entre outros, necessários à sobrevivência (GARFÍ et al., 2016). As principais formas de obtenção de minerais essenciais pelos seres humanos são através da ingestão de alimentos e água, e pela exposição ambiental. Alguns elementos metálicos são considerados essenciais à dieta humana tais como os íons de Ca, K, Na, Mg e Cr. Esses elementos possuem funções biológicas importantes dependendo das suas formas químicas e das suas concentrações, sendo que a deficiência ou o excesso dos mesmos podem ainda apresentar efeitos danosos e tóxicos para os humanos. Por outro lado, existem elementos que não apresentam função biológica conhecida e são considerados tóxicos, tais como Cd, Pb, Hg, As e Sb (CHERFI, ABDOUN e GACI, 2014; DE ANDRADE et al., 2018; TEMPLETON et al., 2000). Para alimentos, bebidas e águas naturais, as concentrações de cada elemento metálico geralmente são preconizadas por agências e organizações governamentais a fim de preservar o ambiente e a saúde humana. Pode-se citar assim a Organização Mundial da Saúde, do inglês *World Health Organization* (WHO), Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês *United States Environmental Protection Agency* (U.S.EPA) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Em relação à questão ambiental, ainda não existe um consenso nos dados para concentração total desses elementos em ambientes aquáticos. Isso torna um desafio maior ainda quando se fala em especiação química.

No que se refere aos alimentos e bebidas, a presença de metais em tais produtos pode ser natural ou decorrente de algum processo de contaminação, a exemplo do processamento e industrialização dos mesmos, através da utilização de máquinas e embalagens que contêm elementos e que podem lixiviar para essas matrizes (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). Diante disso, considerando a forma como os elementos podem ser encontrados no ambiente e alimentos, bem como sua função bioativa ou potencial toxicidade para o ser humano, observa-se uma preocupação constante referente à contaminação de alimentos e água, o que requer um controle e acompanhamento frequente dos níveis destes elementos nestas matrizes (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

Apesar dos limites estabelecidos em agências de regulamentação serem baseadas nos teores totais dos íons metálicos, é reconhecida a necessidade de se avaliar a forma físico-

química que um elemento se encontra na matriz de interesse. A especiação química define a essencialidade do elemento de interesse e sua toxicidade para os organismos vivos que entram em contato com tais matrizes. Portanto, a especiação de elementos é um aspecto de relevância para diferentes áreas, tais como ambiental, alimentar e biológica. O termo especiação pode ser definido como a distribuição das diferentes formas e espécies de um elemento em uma matriz específica (TEMPLETON et al., 2000). Também por definição, a análise de especiação consiste da atividade analítica para identificar e quantificar as espécies químicas de um elemento e a distribuição destas espécies na matriz (TEMPLETON et al., 2000).

A especiação de elementos químicos, especialmente àquelas espécies em concentrações traço, ainda é um desafio analítico, pois requer métodos analíticos sensíveis e com capacidade de detecção para espécies diferentes de um mesmo elemento (ALTUNAY e GÜRKAN, 2016). Além disso, algumas técnicas utilizadas podem necessitar de etapas de preparo da amostra, o que favorece a contaminação e gera custo mais elevado, menor frequência analítica, e produção de resíduos. Com relação a avaliação da especiação de metais e metaloides verifica-se na literatura estudos para elementos como antimônio (Sb) e cromo (Cr), em matrizes como água mineral e água natural, entre outros (HANSEN e PERGANTIS, 2006; DA SILVA, MATAVELIA e ARRUDA, 2013; VIEIRA et al., 2009).

Diante do exposto, considerando que a água é uma fonte renovável, consumida mundialmente pelos seres vivos, e que concentrações de elementos traços essenciais e não essenciais podem estar presentes nessa matriz, é de interesse conhecer a forma que os elementos, encontram-se no meio. Entre esses elementos, é de grande importância o estudo do Sb e do Cr, visto que os mesmos são encontrados no ambiente e alimentos, decorrentes de processos naturais ou por contaminação devido a atividades antrópicas. Além disso, podem ser encontrados em diferentes espécies e formas, sendo que as mesmas podem ser bioativas ou tóxicas para o ser humano. Assim, o estudo desses elementos permite verificar a presença e a especiação dos mesmos nessas matrizes, como forma de avaliar a segurança ambiental e humana.

2.1 ANTIMÔNIO

2.1.1 Características e ocorrência de Sb no ambiente e sistemas aquáticos naturais

O antimônio (Sb) é um elemento encontrado na forma de metaloide cristalino branco prateado (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002b; TYLENDÁ e FOWLER, 2007). Este

elemento está presente na crosta terrestre, de forma natural, em concentrações na faixa de 0,2-0,5 mg kg⁻¹, sendo encontrado principalmente no solo, rios e lagos. Segundo a literatura, considera-se que 41% do Sb presente no ar, está relacionado a fontes naturais, tais como partículas de solo carregadas pelo vento, atividade vulcânica e de erosão, bem como incêndios florestais, fontes biogênicas, entre outras (MIHUCZ e ZÁRAY, 2016; TYLENDÁ e FOWLER, 2007).

O Sb pode ser encontrado no ambiente em vários estados de oxidação (-3, 0, +3, +5), sendo que Sb(III) e Sb(V) são as espécies inorgânicas mais comuns no ambiente natural (OKKENHAUG et al., 2011). Além da presença deste elemento na forma livre, o mesmo ocorre na natureza, principalmente como Sb₂S₃ (estibinita ou antimonita) e Sb₂O₃ (valentinita), a qual é um produto derivado da esibinita (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a). Esses compostos de Sb são ainda encontrados em minérios de cobre, prata e chumbo e como componente comum do carvão e do petróleo (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a). Além disso, outras espécies na forma orgânica podem ser encontradas, como as espécies metiladas de Sb, tais como o ácido estibínico monometilado (CH₃SbO(OH)₂), ácido estibínico dimetilado ((CH₃)₂SbO(OH)), monometilestibina (CH₃SbH₂) e dimetilestibina ((CH₃)₂SbH) (FERREIRA et al., 2014; FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002b).

Visto que Sb pode ser encontrado no ambiente, o mesmo está presente em compartimentos ambientais, como o solo e principalmente os sistemas aquáticos, em quantidades traço. Tem sido relatado na literatura que a presença natural de Sb em águas ambientais não contaminadas é baixa, menor que 1,0 µg L⁻¹, podendo alcançar concentrações de Sb de 100,0 µg L⁻¹ em ambientes contaminados (MIHUCZ e ZÁRAY, 2016; SHOTYK e KRACHLER, 2006).

A presença de Sb em ambientes aquáticos pode ser natural, decorrente de atividades de intemperismo de rochas, da lixiviação a partir de solos, entre outros (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a). Em águas naturais, as duas formas inorgânicas mais comuns do Sb são o antimonato (Sb(OH)₆⁻) e a antimonita (Sb(OH)₃) (FILELLA, BELZILE e LETT, 2007; OKKENHAUG et al., 2011). A presença e comportamento das diferentes espécies de Sb em meio aquoso é dependente do pH e potencial redox (ABBASSE, OUDDANE e FISCHER, 2003). Assim, em meio aquoso, Sb(III) e Sb(VI) são facilmente hidrolisados, sendo difícil manter as espécies de Sb estáveis em solução, com exceção em meios altamente ácidos. Dessa forma, o Sb(III) em presença de H₂O e íons OH⁻, suas formas predominantes são SbO⁺ (ou Sb(OH)₂⁺) em meio muito ácido (abaixo de pH=2,0), H₃SbO₃ e Sb(OH)₃ em pH na faixa de 2,0 a 10,4, e Sb(OH)₄⁻ (ou SbO₂⁻ hidratado) em meio básico (pH acima de 10,4). Podem ainda ser

encontradas, para Sb(III), espécies tais como SbOH^{2+} e $\text{Sb}_2(\text{OH})_2^{4+}$ (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a; UNGUREANU et al., 2015). Enquanto que, o Sb(V) pode ser encontrado em solução na forma de SbO_2^+ em condições muito ácidas (abaixo de $\text{pH}=2$), H_3SbO_4 em pH na faixa de 2,0 a 2,7, e H_2SbO_4^- , $\text{Sb}(\text{OH})_6^-$ (ou SbO_3^-) em condições ácidas, neutras e básicas (pH acima de 2,7) (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a; MENDIL et al, 2013; WU et al., 2011).

Na literatura é relatado ainda, que em águas superficiais oxigenadas (com concentração de oxigênio dissolvido em torno de $8,6 \text{ mg L}^{-1}$), o Sb ocorre prioritariamente como Sb(V), devido a presença do oxigênio no meio, o qual favorece a oxidação da espécie de Sb(III) para Sb(V) (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002b). No entanto, Sb(III) termodinamicamente instável tem sido determinado em ambientes aquáticos oxigenados, tais como águas marinhas, água doce, lençóis freáticos e água de chuva (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002b). É relatado na literatura que espécies termodinamicamente instáveis apresentam mecanismos de interconversão de espécies mais lento em ambientes aquáticos (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a). Assim, esses fatos podem estar relacionados com a atividade biológica. É encontrado na literatura que a presença de ligantes orgânicos, tais como o ácido tartárico, atuam impedindo a oxidação de Sb(III), sendo assim, essa considerada a causa para a presença de Sb(III) em ambientes oxigenados (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a).

Dessa forma, o comportamento, mobilidade, e toxicidade do Sb depende da sua especiação. É conhecido que as espécies na forma inorgânica são geralmente mais tóxicas do que as formas orgânicas (LARIOS et al., 2012; MENDIL et al., 2013; SHAKERIAN et al., 2014). Dentre as formas inorgânicas, o Sb(III) apresenta maior toxicidade que o Sb(V) (WU et al., 2011). Assim, é de grande importância conhecer o ambiente aquático, os elementos presentes no meio e suas espécies químicas, como uma forma de avaliar a possível toxicidade que pode estar associada a este elemento e que pode comprometer a segurança e qualidade de vida humana.

2.1.2 Toxicidade, uso e presença de Sb em água mineral engarrafada em PET

O Sb é um elemento considerado não essencial para os seres humanos. Além disso, é considerado tóxico para a saúde dos seres vivos, podendo apresentar carcinogenicidade e mutagenicidade (WU et al., 2011). Além disso, a potencial toxicidade apresentada pelo Sb, tem levado a este elemento ser considerado um poluente prioritário pela U.S. EPA e União Europeia (PAYÁN et al., 2017; SÁNCHEZ-MARTÍNEZ et al., 2013; SHOTYK e KRACHLER, 2006). Este elemento pode ser considerado ainda um interferente endócrino (IE) (CHOE et al., 2003).

Os IE vêm sendo alvo de estudos, pois podem promover efeitos biológicos nos organismos tais como alterações na função reprodutiva, infertilidade, aumento da incidência de diferentes formas de câncer, além de alterações metabólicas como obesidade, diabetes e outros desvios de metabolismo, bioacumulação e toxicidade crônica (GAMA, 2012; GHISELLI e JARDIM, 2007).

O Sb além de ser encontrado naturalmente no ambiente, pode ainda ser decorrente de atividades antrópicas. Na literatura é relatado o uso de compostos de Sb em processos de ornamentação de cerâmicas e vidros, aditivo em vulcanização de borracha, em tecidos, tintas e em processos de catálise na indústria. O Sb na forma de trissulfeto de antimônio (Sb_2S_3) é utilizado em explosivos, pigmentos e sais de antimônio (TYLENDÁ e FOWLER, 2007). Outras aplicabilidades do Sb estão associadas ao uso de compostos de Sb(V), na forma orgânica, como anti-inflamatórios e tratamento de doenças causadas por parasitas, a exemplo da leishmaniose, cujo o mecanismo exato de ação desses compostos ainda é desconhecido (MIHUCZ e ZÁRAY, 2016).

Além disso, compostos de Sb são empregados como catalisadores e pigmentos, na fabricação de embalagens utilizadas para envase de alimentos e bebidas (MIHUCZ e ZÁRAY, 2016). A embalagem é um meio de proteção para produtos alimentícios e não alimentícios, visando garantir a qualidade desses produtos, durante as etapas de fabricação, armazenamento, distribuição e consumo. Com relação aos produtos alimentícios, as indústrias utilizam, principalmente, embalagens que consistem de materiais como o vidro e os polímeros, tais como o politereftalato de etileno (PET) (PAYÁN et al., 2017).

Nesse contexto, o Sb vem sendo utilizado na indústria, no processamento de embalagens plásticas, como o PET. Durante as etapas de manufatura das embalagens PET ocorrem várias reações de polimerização em que são adicionadas substâncias químicas como os ftalatos e catalisadores de modo a melhorar sua qualidade (FERREIRA e MORITA, 2010; KIYATAKA et al., 2018). Entre os catalisadores adicionados, o trióxido de antimônio (Sb_2O_3) é amplamente utilizado na síntese desse polímero (BACH et al., 2012; CARNEADO et al., 2015; SHAKERIAN et al., 2014). O Sb_2O_3 apresenta alta eficiência, diminuindo a formação de subprodutos e facilitando a produção de polímeros sem coloração (CARNEADO et al., 2015; FAN et al., 2014). Estudos da literatura reportam que os níveis de Sb em embalagens PET variam entre 170 e 300 mg kg⁻¹ (BACH et al., 2012; KERESZTES et al., 2009; WESTERHOFF et al., 2008;). No entanto, uma maior concentração de Sb (353 mg kg⁻¹) foi encontrada em estudos realizados por Hureiki e Mouneimne (2012).

Como citado anteriormente, as embalagens PET são amplamente utilizadas nas indústrias em uma variedade de aplicações, principalmente envase e armazenamento de alguns alimentos e bebidas, incluindo água mineral, sucos, vinagre, etc (CARNEADO et al., 2015; JESUS et al., 2016). Uma das preocupações nos últimos anos, refere-se ao uso das embalagens PET para envase de bebidas. Isso se deve à possível lixiviação de Sb dessas embalagens para a matriz, visto que Sb_2O_3 é utilizado no processo de produção da embalagem. Estudos reportam a presença de maiores concentrações de Sb em águas envasadas, em comparação com águas naturais (JIANG, WEN e XIANG, 2010; SHOTYK e KRACHLER, 2006). Diante disso, estudos da presença de Sb vem sendo realizados em amostras, tais como água mineral, as quais são amplamente consumidas pelos seres humanos (KERESZTES et al., 2009; REIMANN et al., 2010; SHOTYK e KRACHLER, 2007; WESTERHOFF et al., 2008).

Dessa forma, os teores desse contaminante são preconizados pelas legislações. De acordo com a U.S.EPA e a WHO os limites permitidos de antimônio em água mineral são de $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (EPA, 1996; LI et al., 2015; WHO, 2003). A Legislação Brasileira e o Codex Alimentarius estabelecem um limite para Sb em água mineral de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (BRASIL, 2005; CODEX ALIMENTARIUS, 2011). As legislações disponíveis e anteriormente citadas não apresentam dados para a especiação do elemento de interesse, sendo indicado limites para quantidades totais deste elemento. Quanto a isso pode ser ressaltado o desafio no âmbito analítico para especiação de Sb, visto que não existe um consenso nas concentrações totais de Sb encontrados em ambientes aquáticos. Além disso, pode ser salientado ainda a controvérsia nos limites adotados pelas legislações, bem como a escassez de informações quanto a toxicologia deste elemento para o ser humano.

Além das legislações referentes aos níveis de Sb em água, a determinação da migração específica deste elemento a partir de embalagens plásticas para alimentos é relatada na literatura. Os limites de migração específica (LME) máximo adotado para Sb é $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$ para alimentos (Brasil, 2010).

Hansen e Pergantis (2006) avaliaram os teores de Sb em água potável e sucos armazenados em garrafas PET, utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma Acoplado Indutivamente (HPLC-ICP-MS). Foram avaliados ainda os sucos contidos em embalagens de tetra pack, vidro e alumínio. Os resultados mostraram que as amostras armazenadas em vidro e latas de alumínio apresentaram concentrações superiores de Sb ($0,28 - 0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,24 - 0,56 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente) em relação aos teores encontrados em amostras armazenadas em embalagens de tetra pack ($0,07 \pm 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$), visto que o Sb_2O_3 também é utilizado na produção de vidro e revestimento interno

das latas de alumínio. No entanto, as amostras armazenadas em garrafas PET apresentaram os maiores teores de Sb ($0,28 - 1,05 \mu\text{g L}^{-1}$). Os dados obtidos em concentração para Sb(III) e Sb(V) não foram mostrados no artigo.

Em um estudo realizado por Carneado et al. (2015) foi avaliada a especiação de Sb(III) e Sb(V) em amostras de água, por um método de extração em fase sólida acoplado à técnica de Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (GF AAS). O método foi aplicado em amostras de água natural e água mineral em embalagens PET, sendo obtidos para estas amostras valores de Sb(III) e Sb(V) na faixa de $0,019 \pm 0,001$ a $0,075 \pm 0,001 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,015 \pm 0,001$ a $0,317 \pm 0,005 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Dessa forma, o método se mostrou eficiente para a especiação de Sb(III) e Sb(V) em amostras de água, indicando que os teores de Sb encontrados ficaram dentro dos limites estabelecidos pela legislação.

Estudos da literatura reportam ainda que Sb pode ser lixiviado a partir de embalagens PET para a água mineral, e a migração deste elemento pode ser influenciada por diversos fatores, tais como o tamanho e cor da embalagem PET, o pH, a temperatura, a radiação solar e o tempo de estocagem da água mineral (BACH et al., 2014; MIHUCZ e ZÁRAY, 2016; PAYÁN et al., 2017; REIMANN et al., 2012; WESTERHOFF et al., 2008).

Shotyk e Krachler (2007) avaliaram o teor de antimônio e sua lixiviação de garrafas PET em 132 marcas de água mineral de 28 países. Os resultados mostraram que no Japão, duas marcas apresentaram valores iguais ou superior ao teor de Sb permitido, que é $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$. A lixiviação de Sb das garrafas PET para a amostra de água mineral, foi avaliada durante seis meses, indicando um aumento de 19% a 90% de Sb nas amostras de água mineral, durante o período avaliado. Dessa forma, os resultados indicaram que a lixiviação apresenta comportamento variado entre as amostras. Para este estudo foram determinados apenas os teores totais de Sb nas amostras avaliadas.

Outros estudos descritos na literatura, reportam que a lixiviação de Sb é maior em temperaturas mais elevadas, de 40 a 80 °C, apresentando um aumento considerável acima de 60 °C, ultrapassando os limites adotados para a legislação (REIMANN, BIRKE e FILZMOSE, 2012; WESTERHOFF et al., 2008). Estudos referentes à coloração da embalagem foram realizados por Welle e Franz (2011). Os autores avaliaram a concentração de Sb em amostras de água mineral envasada em embalagens PET de diferentes colorações, e observaram que a migração de Sb a partir de embalagens mais escuras é maior em relação às embalagens claras.

Diante do contexto apresentado, esses relatos da literatura reforçam a necessidade da avaliação dos teores totais bem como especiação de Sb em amostras de água mineral, visto que

estudos enfatizam que este elemento pode ser lixiviado a partir da embalagem PET para a matriz (MIHUCZ e ZÁRAY, 2016; REIMANN, BIRKE e FILZMOSE, 2012; SHOTYK e KRACHLER, 2006; WESTERHOFF et al., 2008).

2.2 CROMO

2.2.1 Características, toxicidade e presença de Cr no ambiente e em meio aquoso

O cromo (Cr) é um metal duro de coloração prata e ocorre de forma natural no ambiente, principalmente como cromite (FeCr_2O_4) (MARKIEWICZ et al., 2015; SHARID et al., 2017). O Cr apresenta grande interesse devido a diversos fatores, tais como por se comportar como nutriente ou agente tóxico para os seres vivos, pela sua utilização em indústrias têxteis, refinarias de petróleo e de galvanizações, na fabricação de aço, processamento de níquel, preservação de madeiras, em curtumes e fertilizantes artificiais (AHARCHAOU et al., 2017; HEMMATKHAH et al., 2009; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; PORTO et al., 2017; SHARID et al., 2017; SUSSULINI e ARRUDA, 2006). Esse elemento pode ser encontrado no ambiente em diferentes formas e espécies, principalmente como Cr(III) e Cr(VI). A forma e as concentrações dessas espécies no meio permitem que sejam estimadas sua mobilidade, biodisponibilidade, toxicidade ou essencialidade para os seres vivos (HU, CAY e JIANG, 2016; SAPUTRO et al., 2014).

O Cr(III) é considerado um elemento traço essencial para o ser humano em uma pequena faixa de concentração, pois atua na manutenção efetiva do metabolismo da glicose, lipídios e proteínas nos mamíferos (CHEN et al., 2010; HEMMATKHAH et al., 2009; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; MARKIEWICZ et al., 2015). Porém, o Cr em excesso pode apresentar toxicidade. Esta espécie ocorre em meio aquoso, na forma de Cr^{3+} , CrOH^{2+} , $\text{Cr}(\text{OH})_2$ e $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{aq})$ (CHEN et al., 2010; DEVILLERS et al., 2016; SAPUTRO et al., 2014; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013). O Cr(III) pode formar complexos hexa-coordenados com arranjo de ligantes octaédros (ZHITKOVICH, 2011). Na presença de H_2O ou OH^- , e ausência de outros complexantes, ocorre a formação de complexo hexa-aquo com o cromo ($\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$, representado como Cr^{3+}), sendo os produtos de hidrólise, dependentes do pH do meio. Em soluções mais ácidas, com pH próximo a 4, o Cr(III) é a espécie predominante, enquanto que sob condições levemente ácidas, as espécies $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$ e $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ existem como produtos de hidrólise (MARKIEWICZ et al., 2015). Na faixa de pH acima de 6,0 a 12, a solubilidade do Cr é moderada e ocorre principalmente como $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$. Em pH acima de 12, o Cr na forma $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$ é

transformado em $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$, mais solúvel. Em pH neutro a formação de complexos estáveis com outros ligantes, tais como moléculas orgânicas pequenas, podem aumentar a solubilidade do Cr(III) (MARKIEWICZ et al., 2015; ZHITKOVICH, 2011).

Os compostos de Cr(VI) apresentam maior mobilidade, solubilidade e biodisponibilidade, podendo ocorrer como oxi-ânions em pH neutro. Esta espécie pode ser encontrada como HCrO_4^- , CrO_4^{2-} e $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (BAHADIR et al., 2016; DEVILLERS et al., 2016; HOSSEINI e BELADOR, 2009; JIANG et al., 2013; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013). Em condições fortemente ácidas ($\text{pH} < 1$) o Cr ocorre como H_2CrO_4 . Em pH acima de 1 a 6,5, as espécies predominantes de Cr são na forma de HCrO_4^- e $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Acima de 6,5 o Cr ocorre como CrO_4^{2-} (MARKIEWICZ et al., 2015). Em pH ácido, o Cr(VI) é um oxidante forte, quando moléculas orgânicas com grupos oxidáveis promovem a sua redução para Cr(III) (ZHITKOVICH, 2011). Assim, Cr(VI) é a espécie mais tóxica, devido a maior habilidade em penetrar membranas biológicas, fato este associado à similaridade estrutural entre Cr(VI) e ânions como SO_4^{2-} e PO_4^{3-} (AHARCHAOU et al., 2017; BAHADIR et al., 2016; LIANG e SANG, 2008; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; PORTO et al., 2017). A U.S. EPA e a Agência Internacional para a Pesquisa em Câncer, do inglês *International Agency for Research on Cancer* (IARC) considerou os compostos de Cr(VI) como agentes mutagênicos e carcinogênicos, podendo apresentar toxicidade para os seres humanos (BAHADIR et al., 2016; LIANG e SANG, 2008; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; MARKIEWICZ et al., 2015; ZHITKOVICH, 2011).

O comportamento observado das espécies do Cr presente naturalmente no ambiente aquático, pode apresentar mudanças de especiação dependendo de outros fatores tais como a ocorrência de atividades antrópicas que modificam as características do meio e ainda devido a presença de outros fatores tais como a matéria orgânica. Dessa forma, a discussão e conhecimento desses fatores torna-se importante para melhor compreender a especiação deste elemento em ambientes aquáticos.

2.2.2 Presença de Cr em ambientes aquáticos

O Cr está presente na água, no ar, no solo de forma natural ou decorrente de atividades antrópicas, tais como atividades agrícolas, a exemplo dos fertilizantes e atividades industriais (metalurgia, curtume, produtos químicos, entre outros), como já citado anteriormente (AHARCHAOU et al., 2017; SOLIEMANZADEH e FEKRI, 2017). A exposição ao cromo pelos seres humanos pode ocorrer ainda pela utilização de produtos de consumo, tais como

utensílios domésticos, conservantes de madeira, cimento, produtos de limpeza, têxteis e couro curtido (MOTARJEMI, MOY e TODD, 2014). Dessa forma, o Cr pode entrar na cadeia alimentar principalmente através do consumo de bebidas e alimentos, e dependendo da espécie presente e da concentração, pode promover uma potencial toxicidade aos seres humanos (CHEN et al., 2014).

Assim, considerando as diferentes funções e toxicidades do Cr(VI) e Cr(III) para o ser humano, é importante conhecer os teores desse elemento e suas espécies em matrizes alimentares e ambientais, como uma garantia de segurança à saúde humana. Diante disso, este elemento tem sido considerado um poluente ambiental de preocupação pela comunidade científica (DEVILLERS et al., 2016; DURAN, TUZEN e SOYLAK, 2011; FAN, QIAO e GUAN, 2017; PORTO et al., 2017; SHARID et al., 2017; TAHMASEBI e DAVARANI, 2016; XU et. al., 2017). Uma das matrizes que tem causado preocupação com relação aos teores de Cr é a água, que é um recurso natural abundante no mundo e de suma importância para a vida humana. Os ambientes aquáticos podem apresentar ainda possível contaminação devido às atividades antrópicas. Diante disso, a manutenção da qualidade e segurança da água é fundamental (GARFÍ et al., 2016).

Em sistemas aquáticos ambientais, Cr é originado de fontes naturais, tais como intemperismo dos constituintes de rochas e precipitação úmida e seca da atmosfera (KOTÁS e STASICKA, 2000). De acordo com a literatura, a presença e razão entre as formas de Cr(III) e Cr(VI) em água natural depende de vários processos, tais como transformações redox químicas e fotoquímicas e reações de precipitação/dissolução e adsorção/dessorção (KOTÁS e STASICKA, 2000). No entanto, a presença de Cr em ambientes aquáticos pode estar associada ainda à atividade humana (DEVILLERS et al., 2016). A literatura relata que a presença e a concentração das formas de Cr em descargas de efluentes depende dos compostos usados nos processos de tecnologia, bem como pH e resíduos (orgânicos e/ou inorgânicos) obtidos a partir do processamento de materiais. Dessa forma, a presença de Cr(VI) será pronunciada em águas residuais obtidas por meio da indústria metalúrgica e produção ou aplicação de pigmentos. Enquanto que, Cr(III) será encontrado em águas residuais de curtume, indústrias têxteis e de revestimento decorativo (KOTÁS e STASICKA, 2000).

Assim, com a inserção de espécies em ambientes aquáticos, ocorre modificação nesses ambientes, nas propriedades e comportamentos dos corpos aquáticos, bem como na interação desses elementos com o meio. Dessa forma, os elementos presentes no meio aquático podem ser encontrados associados ao material particulado, colóides, bem como na forma dissolvida (ABBASSE, OUDDANE e FISCHER, 2003; DOS ANJOS, ABATE e GRASSI, 2017). Essas

formas são distinguidas por centrifugação ou filtração em membrana de 0,45 µm para separação das partículas, da forma dissolvida (AIKEN, HSU-KIM e RYAN, 2011). No entanto, frações coloidais podem passar pela membrana para o interior da fração dissolvida. A matéria coloidal constitui partículas hidrofóbicas, hidrofílicas e intermediárias, as quais estão presentes no ambiente marinho. A fração coloidal pode ser de grande importância para a especiação química e distribuição de elementos traço no ambiente aquático (ABBASSE, OUDDANE e FISCHER, 2003).

As espécies dos elementos na forma dissolvida estão presentes como íons livres hidratados e pares de íons, além de complexos orgânicos e inorgânicos formados por ligação covalente, dependendo do pH, estado de oxidação e abundância desses complexantes no meio (ABBASSE, OUDDANE e FISCHER, 2003). Entre os ligantes inorgânicos estão o cloreto, carbonato, sulfato, hidroxila e fluoreto, os quais formam complexos em sua maioria lábeis, com metais traço. Enquanto que, os ligantes orgânicos consistem de espécies bioquímicas (ácidos carboxílicos, aminoácido, açúcares, entre outros) além de compostos heterogêneos não conhecidos. A matéria orgânica presente em ambientes aquáticos provém de organismos vivos, tais como, polipeptídeos e polissacarídeos em algas e por fontes de poluição (ABBASSE, OUDDANE e FISCHER, 2003).

Em sistemas aquáticos naturais, o Cr(III) é a forma mais comum de ocorrência natural de Cr, em quantidades traço, sob condições óxicas ou subóxicas, as quais implicam na presença de NO_3^- e SO_4^{2-} para oxidação da matéria orgânica. Enquanto que, Cr pode ocorrer ainda como Cr(VI), na forma de CrO_4^{2-} sob condições fortes de oxidação (CHOPPALA, BOLAN e PARK, 2013). Relatos da literatura mostram que quantidades significativas de Cr(III) foram encontradas em ambientes aquáticos oxigenados (com concentração de oxigênio dissolvido em torno de $8,6 \text{ mg L}^{-1}$), em que ocorre predominantemente a presença de Cr(VI) (GENÇ-FUHRMAN, MIKKELSEN e LEDIN, 2016; KACZYNSKI e KLEBER, 1993; KOTÁS e STASICKA, 2000). Dessa forma, a presença de Cr(III) em ambientes oxigenados pode estar relacionado à interconversão das espécies. Nesse fenômeno, a presença, a distribuição e a conversão das espécies de Cr(VI)/Cr(III) são influenciadas pela concentração de oxigênio no meio, bem como, outros fatores naturais, tais como presença de Fe^{2+} , S^{2-} , matéria orgânica dissolvida e atividade de micro-organismos (KALČÍKOVÁ et al, 2016; KOTÁS e STASICKA, 2000; MARKIEWICZ et al., 2015).

A matéria orgânica natural (MON) pode ocorrer como matéria orgânica dissolvida ou coloidal (HAITZER et al., 1998). A presença da matéria orgânica pode ser natural, de origem alóctone (proveniente de atividade geológica ou hidrológica), e autóctone (atividade

microbiológica e de algas). A MON alóctone exibe um caráter húmico e a MON autóctone consiste de matéria orgânica algogênica solúvel (decomposição da matéria orgânica vegetal aquática e terrestre), tais como ácidos glicólicos, carboidratos, polissacarídeos, ácidos amino, peptídeos, enzimas e toxinas (MENG et al., 2013; MICHAEL-KORDATOU et al., 2015).

A maior parte da matéria orgânica natural dissolvida é composto por substâncias húmicas, tais como ácidos húmicos, fúlvicos e humin (MICHAEL-KORDATOU et al., 2015). Os ácidos húmicos (AH) e fúlvicos (AF) constituem uma fração predominante do carbono orgânico total (do inglês *total organic carbon* - TOC) presente em ambientes aquáticos (ABBASSE, OUDDANE e FISCHER, 2003; GENÇ-FUHRMAN, MIKKELSEN e LEDIN, 2016). Os compostos orgânicos são originados pela decomposição da matéria viva, consistindo na mistura de polímeros com grupos hidrofóbicos e hidrofílicos carregados. A solubilidade dessas substâncias em água é diferenciada, sendo que ácidos húmicos não são solúveis em pH menores que 2,0, sendo solúveis em condições mais alcalinas, os ácidos fúlvicos são solúveis em todos os valores de pH e o humin é insolúvel em todos os valores de pH (MICHAEL-KORDATOU et al., 2015). Em solução, esses compostos orgânicos ocorrem de forma livre, carregados negativamente ou ligados a outros (glicina, ácido aspártico e alanina). A matéria húmica apresenta grupos funcionais principais, tais como -COOH, -NH₂, -OH e -SH, que complexam com muitos cátions metálicos (ABBASSE, OUDDANE e FISCHER, 2003). O ácido húmico pode se comportar como uma molécula dissolvida, como um colóide ou como um precipitado. Assim, os ácidos húmicos e fúlvicos podem atuar, formando complexos solúveis em água. Além disso, podem ainda formar complexos com íons metálicos, entre eles, os metais traço, devido a área superficial relativamente grande (GENÇ-FUHRMAN, MIKKELSEN e LEDIN, 2016; KALČÍKOVÁ et al., 2016). Na literatura, é relatado ainda que a matéria orgânica, como os ácidos húmicos, atua reduzindo facilmente o Cr(VI) à Cr(III), podendo formar complexos com Cr(III) (CHEN et al., 2010; GENÇ-FUHRMAN, MIKKELSEN e LEDIN, 2016; KALČÍKOVÁ et al., 2016). Dessa forma, a especiação e ligação de metais traço às superfícies pode ser significativamente influenciada pela presença de matéria orgânica no meio (GENÇ-FUHRMAN, MIKKELSEN e LEDIN, 2016).

Além disso, a presença de matéria orgânica pode ser decorrente ainda de atividades antrópicas, tais como atividades industriais, domésticas e agricultura (MENG et al., 2013). A matéria orgânica provinda de efluente pode ser dissolvida, particulada ou coloidal. A matéria orgânica de efluente dissolvida, contém produtos microbianos solúveis provindos do tratamento de águas residuais biológicas, microcontaminantes, produtos de transformação de processos bióticos e abióticos, entre outros, além de MON dissolvida (MICHAEL-KORDATOU et al.,

2015). A matéria orgânica de efluente particulada ou coloidal compreende fibras de celulose, algas, bactérias, protozoários, resíduos microbióticos, detritos miscelares, entre outros (MICHAEL-KORDATOU et al., 2015).

Independentemente da origem do Cr em ambientes aquáticos, o comportamento das espécies no meio, apresenta influência de vários fatores, sejam eles, referentes à composição natural ou decorrente de atividades antrópicas e que podem modificar o ambiente aquático. Considerando a forma como esses elementos podem ser encontrados no ambiente e bebidas, bem como sua função bioativa ou potencial toxicidade para o ser humano, observa-se uma preocupação constante referente à contaminação de alimentos e água por elementos metálicos. Diante disso, torna-se importante determinar os níveis destes elementos nestas matrizes, bem como as diferentes espécies desses elementos que podem estar presentes na matriz (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). Assim, estudos são encontrados na literatura para especiação de Cr em água mineral engarrafada em PET, água natural superficial e subterrânea, e de torneira (BAHADIR et al., 2016; CHEN et al., 2010; KRACHLER e SHOTYK, 2009; LÓPEZ-GARCÍA, VICENTE-MARTÍNEZ, HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2012; MÄDLER et al., 2016; MARCINKOWSKA, KOMOROWICZ e BARAŁKIEWICZ, 2016).

Porto et al. (2017) avaliaram a concentração total e especiação de Cr em amostras de água utilizando microextração líquido-líquido dispersiva combinada com espectrometria de absorção atômica por chama com fonte contínua de alta resolução. Para o método foi utilizado como complexante a pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC), em meio ácido (pH 2,0) para Cr(VI) e meio neutro (pH 7,0) para Cr(total), em presença de NaCl, 1-undecanol como solvente extrator e etanol como solvente dispersor. O método foi realizado para amostras de água mineral, água de torneira. Os valores de Cr(total) não foram determinados nas amostras, no entanto as recuperações variaram de 94,0 a 114,0 %.

Na literatura, outros trabalhos relatam para água mineral, de torneira e de rio, concentrações de Cr(VI) e Cr(III) na faixa de 0,10 a 4,20 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,06 a 17,75 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (MATOS et al., 2009; TAHMASEBI e DEVARANI, 2016).

De acordo com a WHO, o limite permitido de cromo total em água potável é de 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (WHO, 2003). Para a U.S.EPA a concentração total limite é de 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em água potável (EPA, 1996). A legislação Brasileira estabelece um limite de Cr total em água mineral e água natural de 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (BRASIL, 2005). Assim como para o Sb, para o Cr o limite de migração específica (LME) máximo adotado para alimentos é de 0,05 mg kg^{-1} (Brasil, 2010).

Assim, diante dos fatores ressaltados anteriormente, torna-se importante realizar estudos para determinação das concentrações totais e especiação de Cr em águas minerais e naturais. A avaliação da presença de Cr total e sua especiação nas amostras de água mineral permitem avaliar o comportamento das espécies e estimar assim a possível toxicidade para os seres vivos. Assim, métodos de separação, tais como extração por ponto nuvem e microextração líquido-líquido dispersiva, com detecção por técnicas espectrométricas vem sendo utilizados.

2.3 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO E ESPECIAÇÃO DE ELEMENTOS

2.3.1 Métodos de determinação de Sb e Cr em água

A avaliação de elementos tais como Sb e Cr em água é de suma importância, considerando os efeitos tóxicos que podem estar associados a esses elementos, dependendo das suas concentrações. Segundo as normas do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998), a determinação de quantidades totais de elementos em água é realizada pela digestão da amostra por via úmida, em chapa de aquecimento, utilizando HNO_3 e determinação dos elementos por FAAS (OLIVEIRA e SILVA, 2013). É importante salientar que para elementos mais voláteis e em baixas concentrações o uso de técnicas mais sensíveis e com pré-tratamento da amostra menos desfavoráveis a esses analitos, é necessário.

Uma forma de realizar um pré-tratamento para amostras de água, onde busca-se a decomposição da matéria orgânica garantindo a integridade dos analitos de interesse, é o uso da digestão com radiação UV. Neste caso, as amostras são irradiadas utilizando-se uma lâmpada a vapor de mercúrio de alta potência, geralmente em posição axial (NOGUEIRA, PEREIRA, e KAMOGAWA, 2016). A ação da radiação UV nos compostos orgânicos, permite a formação de oxigênio singlete e radicais hidroxila ($\text{OH}^\cdot$). No entanto, esse processo de oxidação é favorecido pelo uso de substâncias como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ozônio (O_3), ácido nítrico (HNO_3), etc. (GOLIMOWSKI e GOLIMOWSKA, 1996). O uso de H_2O_2 , por exemplo, é por vezes empregado nos procedimentos de digestão por UV, considerando que a presença deste reagente no meio reacional, gera radicais $\text{OH}^\cdot$, degradando a matéria orgânica e convertendo-a em dióxido de carbono (CO_2) (NOGUEIRA, PEREIRA, e KAMOGAWA, 2016).

Para amostras de água natural, em que a complexidade da matriz é menor, e possivelmente com menor interferência da matéria orgânica, a concentração total de elementos pode ocorrer realizando-se a filtração das amostras, seguida pela aplicação de uma técnica de

quantificação. Geralmente, nestes casos, é analisada a fração dissolvida (com ou sem diluição, dependendo da concentração do elemento de interesse), e também o material particulado resultante da filtração. Para este último, é feita uma decomposição, via digestão úmida - na maioria das vezes - fazendo-se a determinação das espécies presentes e de interesse para o estudo.

Diferentes técnicas vêm sendo utilizadas não somente para determinação total, mas ainda para a especiação de elementos, especialmente Sb e Cr em água. Entre elas, podem ser citadas as técnicas de quantificação como a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry* (GF AAS), espectrometria de absorção atômica em chama com gerador de hidretos, do inglês *hydride generation flame atomic absorption spectrometry* (HG FAAS), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry* (ICP OES) bem como a espectroscopia atômica de fluorescência, do inglês *atomic fluorescence spectroscopy* (AFS). Outras técnicas, como a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry* (ICP-MS), permitem não somente a quantificação de um analito específico, mas também a separação do analito de interesse da matriz para posterior quantificação (MELLO et al., 2016; MENDIL et al., 2013; PESAVENTO, ALBERTI e BIESUZ, 2009; VIEIRA et al., 2009).

Dentre as técnicas espectrométricas o GF AAS vem sendo utilizado para a determinação de elementos em matrizes diversas. Isso se deve à esta técnica apresentar maior sensibilidade que o FAAS, permitindo a análise em concentrações traço dos elementos, devido aos baixos limites de detecção. Além disso, em conjunto com as técnicas espectrométricas, técnicas de separação são utilizadas como forma de extrair e pré-concentrar o elemento de interesse, presente na amostra sob baixas concentrações, para posterior determinação de sua concentração. Trabalhos relatados na literatura demonstram a utilização da técnica de GF AAS, com técnicas de extração e pré-concentração para especiação de diversos elementos, incluindo Sb e Cr (JIANG, WEN e XIANG, 2010; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; SOUZA e TARLEY, 2008).

Na literatura, diferentes metodologias para especiação que podem incluir separação, detecção e quantificação são utilizadas na determinação de diversas formas e espécies do elemento de interesse em alimentos, bebidas e amostras ambientais (VIEIRA et al., 2009). A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) e Cromatografia à Gás, do inglês *Gas Chromatography* (GC) podem ser usados na

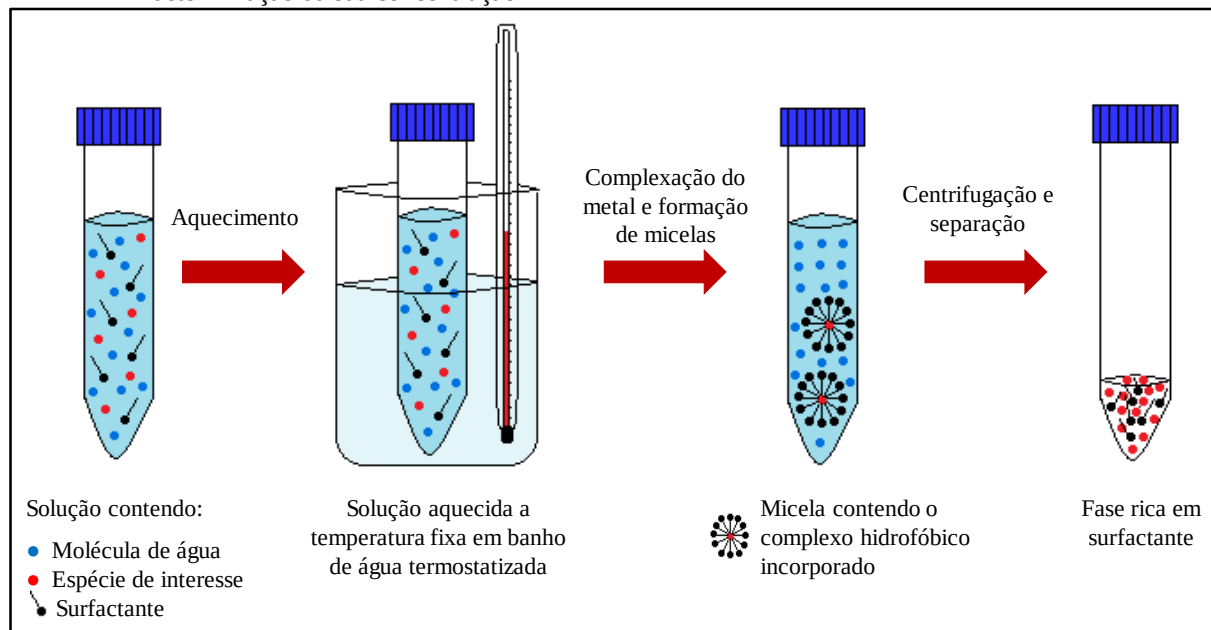
separação dos componentes da matriz de interesse; bem como, os métodos de separação, tais como extração Líquido-Líquido, do inglês *Liquid-Liquid Extraction* (LLE); extração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Extration* (SPE); extração por Ponto Nuvem (EPN), do inglês *Cloud Point Extraction* (CPE); Microextração Líquido-Líquido Dispersiva, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction* (DLLME), entre outras (MENDIL et al., 2013; PESAVENTO, ALBERTI e BIESUZ, 2009; VIEIRA et al., 2009).

O LLE é uma técnica clássica de extração por meio da ação de solvente e permite a separação, extração com ou sem pré-concentração das espécies, visto que os analitos geralmente estão presentes na matriz em níveis traço (faixa de 10^{-3} mg L⁻¹) (ALTUNAY e GURKAN, 2015; MENDIL et al., 2013; RIVAS, LÓPEZ-GARCIA e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2009; VIEIRA et al., 2009). No entanto, esta técnica de extração possui como desvantagem o maior consumo de solventes, custo de análise, tempo de extração, dificuldade de automação e maior geração de resíduos (MELLO et al., 2016). Dessa forma, outras técnicas com minimização desses fatores vêm sendo reportadas. Pode-se citar o EPN e DLLME (RIVAS, LÓPEZ-GARCIA e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2009). Essas técnicas, em relação ao LLE, permitem a extração seletiva e pré-concentração do elemento de interesse da matriz para determinação das quantidades totais dos elementos e sua especiação, com a minimização de etapas de extração, bem como diminuição da quantidade de reagentes e custo da análise (SUSSULINI e ARRUDA, 2006).

2.3.1.1 Extração por ponto Nuvem

A Extração por Ponto Nuvem (EPN) é uma técnica de separação e pré-concentração que consiste na turvação de uma solução aquosa contendo surfactante acima da concentração micelar crítica. Essa turvação pode ser ocasionada pela adição de substâncias tais como sais ou ácidos, ou ainda por alteração de propriedades como temperatura ou pressão (SOMERA et al., 2012). Isso porque a solubilidade do surfactante em água diminui, promovendo a turbidez da solução (MELLO et al., 2016; SAMADDAR e SEN, 2014; SOMERA et al., 2012; VIANA et al., 2014). Assim, ocorre a formação e separação de duas fases, sendo uma fase rica e outra fase pobre em surfactante. A fase rica em surfactante em menor volume contém os elementos/compostos extraídos da solução e é usada para análise, com consequente determinação. A fase pobre em surfactante, em maior volume, não é utilizada para análise, sendo então descartada (SAMADDAR e SEN, 2014). A Figura 2.1 mostra as etapas de formação do ponto nuvem.

Figura 2.1. Etapas de formação do ponto nuvem com extração da espécie de interesse e separação para determinação da sua concentração



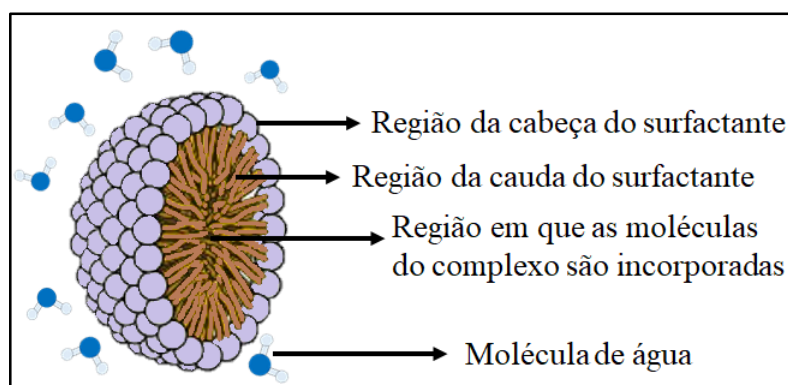
Fonte: Adaptado de Samaddar e Sen (2013)

Esse método vem sendo utilizado na especiação de elementos metálicos e metalóides devido à partição líquido-líquido dos compostos na fase rica em agregados micelares, bem como, ao uso de surfactantes atóxicos e obtenção de altos fatores de pré-concentração. Isso permite uma maior sensibilidade, além de apresentar baixo custo, rapidez e utilização de pequenos volumes de reagentes (SAMADDAR e SEN, 2014; SOMERA et al., 2012). A extração de íons metálicos por EPN pode ser realizada sem a presença de agente complexante. No entanto, os complexantes são amplamente utilizados nessa técnica de extração. Isso se deve ao fato de que a presença de agente quelante melhora a separação dos íons metálicos, devido a formação de complexos insolúveis ou parcialmente solúveis em água, os quais apresentam hidrofobicidade (PYTLAKOWSKA, KOZIK e DABIOCH, 2013). O agente quelante permite a formação de um complexo com uma das espécies do elemento de interesse, para posterior concentração dessa espécie em solução. Isso ocorre devido a ação do surfactante no meio, que favorece a formação de micelas contendo o elemento de interesse complexado (MATOS et al., 2009). Entre os complexantes utilizados, pode-se citar os derivados de piridilazo e tiazolilazo tais como 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN), 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN), 4-(2-piridilazo) resorcinol (PAR) e 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(dietilamino) fenol (5-Br-PADAP). Além desses ligantes orgânicos, outros vem sendo empregados, tais como a pirrolidna ditiocarbamato de amônio (APDC), dietilditiocarbamato (DDTC), O,O-dietilditiofosfato (DDTP), 8-hidroxiquinolina (oxina, 8-HQ) e ditizona (PYTLAKOWSKA, KOZIK e DABIOCH, 2013).

O complexante utilizado na EPN, para especiação de elementos metálicos deve apresentar seletividade, elevado potencial de complexação com o elemento de interesse, e apresentar hidrofobicidade em meio aquoso. Isso é necessário para que o quelato metálico hidrofóbico possa ser retido no interior da micela, que se formou pelo agrupamento das moléculas de surfactantes em solução (SOMERA et al., 2012).

A formação das micelas ocorre devido a molécula de tensoativo possuir uma parte hidrofóbica ou apolar, também chamada de cauda (cadeia de hidrocarbonetos entre 8-18 átomos) e uma parte hidrofílica ou polar, designada de cabeça (VIANA et al., 2014). As micelas são agregados de moléculas, apresentando caráter hidrofóbico e hidrofílico, que se organizam em solução quando atingem uma determinada concentração micelar crítica (CMC) (SUSSULINI e ARRUDA, 2006). A CMC é a concentração mínima de surfactante necessária para a formação de micelas, originando assim, os agregados moleculares de dimensão coloidal (MANIASSO, 2001). A Figura 2.2 mostra a representação da micela com o complexo no interior.

Figura 2.2. Representação geral da micela, com incorporação do complexo formado



Fonte: Figura adaptada de Farmacotécnica (2017)

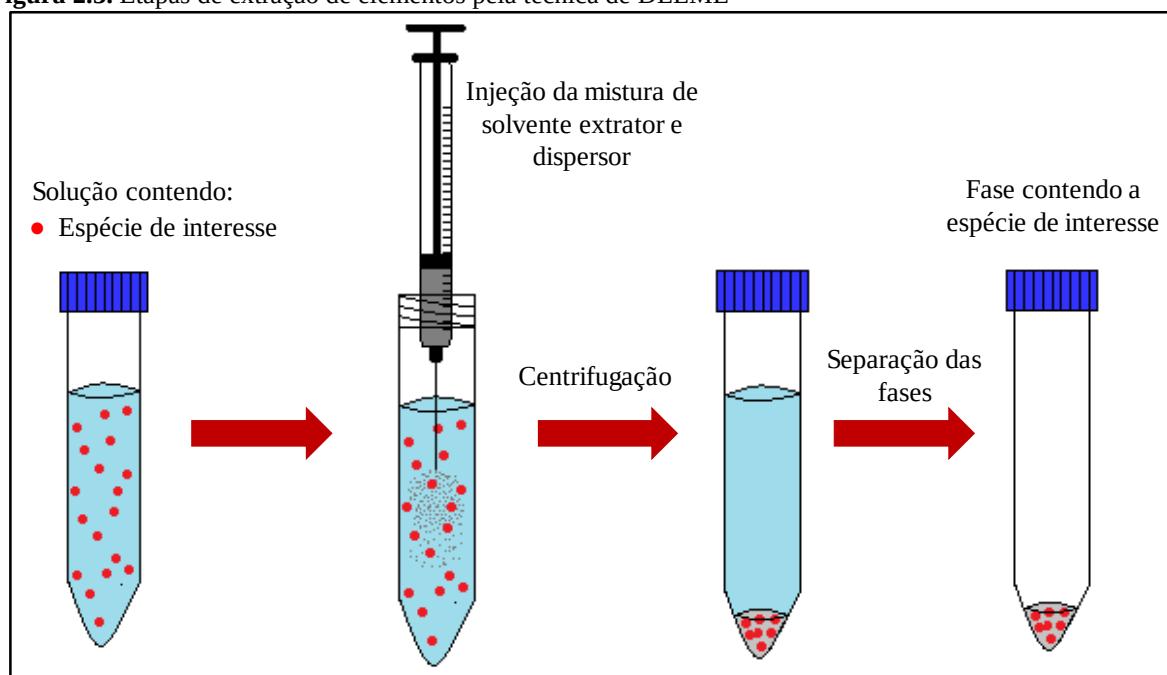
Os surfactantes atuam de forma a modificar algumas propriedades reacionais, tendo como principal característica a capacidade de formar micelas, devido seu caráter anfifílico (FRIZZARIN et al., 2015; MANIASSO, 2001; SUSSULINI e ARRUDA, 2006). Entre os surfactantes empregados, pode-se citar os surfactantes não iônicos tais como Triton X-114 (éter de polioxietileno-7,5-octil-fenoxi), Triton X-100 (éter de polioxietileno-9,5-octil-fenoxi) e PONPE (éter de polinonilfenil). Em alguns casos, podem ser utilizadas misturas de surfactantes não iônicos e catiônicos/aniônicos ou somente surfactantes catiônicos (PYTLAKOWSKA, KOZIK e DABIOCH, 2013).

Na literatura, trabalhos vem sendo realizados utilizando extração por ponto nuvem para especiação de Sb em água mineral envasada em PET e água natural (FAN, 2005; LI et al., 2008). Jiang, Wen e Xiang (2010) desenvolveram um trabalho de EPN combinado com espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) para especiação de Sb(III) e Sb(V) em embalagens de alimentos. Para o estudo foram avaliados os fatores que influenciam na extração do Sb por EPN (pH, concentração de complexante e surfactante, temperatura de equilíbrio e tempo de incubação). Os resultados mostraram que o método foi eficaz para a especiação de antimônio inorgânico. Sb(III), Sb(V) e Sb(total) foram quantificados nessas amostras e os valores obtidos foram na faixa de 0,57 a 1,98 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0,56 a 1,40 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 1,89 a 2,34 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

2.3.1.2 Microextração Líquido-Líquido Dispersiva

A DLLME é uma técnica de extração e pré-concentração baseado na injeção de uma mistura de dois solventes (dispersor e extrator) na amostra. O solvente extrator é disperso na fase aquosa em gotas pequenas, que ao entrar em contato com a espécie de interesse atua de forma a extrair o elemento da matriz (AL-SAIDI e EMARA, 2014; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; REZAEI, YAMINI, FARAJI, 2010). Isso ocorre, devido ao solvente dispersor, que tem como função permitir a dispersão das moléculas de solvente extrator na amostra em gotas muito pequenas, de modo a promover uma extração mais eficiente do elemento de interesse. O solvente dispersor deve ser miscível na fase aquosa e orgânica. Há assim, a formação de uma solução turva que é então centrifugada, e sua fase contendo o analito de interesse é separada para posterior análise (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013). Esta técnica permite a utilização de volumes pequenos de reagentes, além de apresentar baixo custo, rapidez e eficiência (MARTINS et al., 2012). A Figura 2.3 mostra as etapas da técnica de microextração líquido-líquido dispersiva utilizada na extração de diversos compostos.

Figura 2.3. Etapas de extração de elementos pela técnica de DLLME



Fonte: Adaptado de Martins et al. (2012)

Na DLLME a extração ocorre em uma única etapa, e baseia-se no processo de partição dos analitos entre duas fases líquidas imiscíveis, sendo a fase aquosa polar (amostra) e a fase orgânica apolar (solvente extrator orgânico) (MARTINS et al., 2012; OJEDA e ROJAS, 2009). Essa polaridade do sistema governa a solubilização dos analitos nas fases que o constitui. Além disso a polaridade, do sistema pode ser afetada por fatores tais como presença de sais, pH da fase aquosa, modificadores, entre outros (MARTINS et al., 2012).

Dessa forma, a DLLME pode ser classificada como extração exaustiva ou extração de equilíbrio. A técnica de extração exaustiva ocorre quando a fase orgânica contém maior proporção do analito, com eficiência próxima a 100,0%, sendo a exatidão expressa como percentual de recuperação. No entanto, se a transferência do analito entre as fases aquosa e orgânica for parcial, a técnica de extração é designada de equilíbrio (MARTINS et al., 2012).

Alguns fatores que afetam a eficiência de extração são a seleção e volume de agente extrator e dispersor, efeito da adição de sais, pH do meio, tempo de extração, entre outros (MARTINS et al., 2012; REZAEE, YAMINI, FARAJI, 2010). O solvente extrator orgânico, na DLLME, deve apresentar densidade maior ou menor que a água, além de baixa solubilidade em água, de modo permitir a separação das fases (ANDRUCH et al., 2013). Além disso ambos solventes extrator e dispersor devem apresentar pressão de vapor baixa e temperatura de ebulição relativamente alta. Esses fatores evitam perdas de solvente durante a extração (ANDRUCH et al., 2013; MARTINS et al., 2012). Entre os solventes extratores, solventes de

maior densidade são utilizados, tais como o clorofórmio, tetracloreto de carbono, tricloroetileno, clorobenzeno, tetracloroetileno, diclorometano, tetracloroetano, tricloroetileno, entre outros (CAMPILLO et al., 2016). No entanto, são empregados ainda solventes de baixa densidade, como o 1-undecanol, 1-octanol, 1-dodecanol ou 2-dodecanol, tolueno, N-hexano, dissulfeto de carbono, tributilfosfato, entre outros (CAMPILLO et al., 2016). Assim como o solvente extrator, o solvente dispersor deve apresentar características importantes. A principal característica do solvente dispersor, é a miscibilidade entre ambos solvente extrator e fase aquosa (MELLO et al., 2016). Entre os solventes dispersores comumente utilizados estão o metanol, acetonitrila, acetona e etanol (CAMPILLO et al., 2016; OJEDA e ROJAS, 2009).

Embora o volume de solvente extrator é reduzido, alguns dos solventes utilizados são tóxicos (tetracloreto de carbono, clorofórmio, dissulfeto de carbono, clorobenzeno, entre outros). Dessa forma, diferentes formas de aplicação da técnica, vem sendo propostas, tais como o uso do DLLME com líquidos iônicos (*ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction*, IL-DLLME) e DLLME com solidificação de gota flutuante (*dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic drop*, DLLME-SFO) (MELLO et al., 2016). Além dessas modificações vem sendo utilizado o DLLME assistido por ultrassom (*ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction*, US-DLLME) ou também conhecida como microextração por emulsificação assistida por ultrassom (*ultrasound-assisted emulsification microextraction*, UAEME) (CAMPILLO et al., 2016; MELLO et al., 2016).

A UAEME é uma técnica de extração baseada na DLLME comum. No entanto, nesta técnica não é utilizado solvente dispersor, sendo empregado o ultrassom para a dispersão das moléculas do solvente extrator na amostra (MELLO et al., 2016). O ultrassom atua formando uma emulsão e aumentando a eficiência de extração, visto que o emprego da vibração ultrassônica favorece a obtenção de microgotas (MARTINS et al., 2012; MELLO et al., 2016). Além disso, o uso desta técnica ter permitido o aumento da transferência de massa, melhor penetração do solvente durante a extração, menos uso de solvente, extração à baixas temperaturas, além de maior velocidade de extração (PICÓ, 2013).

O uso do ultrassom no método de UAEME, deve ser avaliado cuidadosamente, visto que alguns parâmetros, tais como temperatura, tempo, pH, frequência e potência do instrumento e tipo de solução extratora, podem alterar a estabilidade de algumas espécies. Assim, é importante conhecer os constituintes majoritários da matriz, pois podem ocorrer reações de oxidação/redução pela ação do ultrassom, favorecendo a interconversão de espécies, principalmente inorgânicas (MELLO et al., 2016).

Na literatura, a técnica de DLLME vem sendo aplicada para compostos orgânicos. No entanto, o uso desta técnica vem sendo estendida para a determinação de íons metálicos, com uso de detecção por absorção atômica (REZAEI, YAMINI, FARAJI, 2010). Dessa forma, a técnica de DLLME assistida por ultrassom vem sendo aplicada em diversos métodos de extração e pré-concentração de elementos, tais como o Cr, em amostras de água mineral, natural e de torneira. López-García et al. (2013) desenvolveram um método de DLLME aliado ao GF AAS para especiação de Cr em amostras de água de torneira, água mineral, água de mar e soluções lixiviadas de embalagens plásticas. Para o estudo foram avaliados fatores tais como: pH do meio, a aplicação da agitação ultrassônica em diferentes temperaturas, o volume do agente extrator (TBP), otimização do programa de aquecimento do forno de grafite, o fator de enriquecimento, interferência de íons, além de parâmetros de validação (faixa linear, LD, precisão e exatidão). Os resultados mostraram que o método foi preciso e exato, sendo eficaz e confiável para a especiação de Cr nas amostras analisadas. O teor de Cr(III) e Cr(VI) obtido nas amostras avaliadas foi de ND - $0,061 \pm 0,003 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,009 \pm 0,002$ - $0,095 \pm 0,005 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Diante desse contexto, visto que espécies de Sb e Cr podem ser encontradas em águas minerais e naturais e estes elementos, dependendo da espécie e concentração, apresentam potencial toxicidade para os seres vivos, é importante avaliar a presença e especiação de Sb e Cr nessas amostras. Dessa forma, este trabalho apresenta a implantação, otimização e validação de protocolos analíticos de EPN para especiação de Sb e UAEME para especiação de Cr em águas, com detecção por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS). Para Sb, é apresentado ainda um estudo de especiação em amostras de água mineral, e avaliação dos fatores que influenciam na migração de Sb a partir da embalagem PET. Para Cr é apresentado um estudo de especiação em amostras de água mineral e natural, além da caracterização das amostras de água natural coletadas. Visto que os protocolos analíticos utilizados para cada elemento estudado são distintos, a tese foi estruturada sob a forma de capítulos para melhor apresentação e compreensão dos assuntos.

CAPÍTULO 3

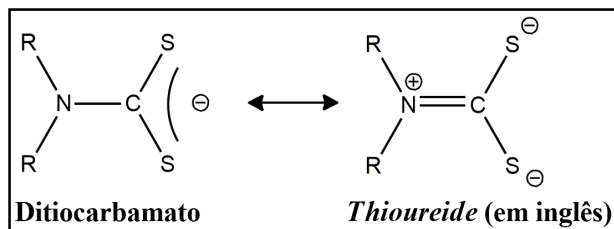
AVALIAÇÃO DA ESPECIAÇÃO DE ANTIMÔNIO INORGÂNICO EM AMOSTRAS DE ÁGUA MINERAL ENVASADAS EM EMBALAGENS DE POLITEREFTALATO DE ETILENO (PET)

3.1 INTRODUÇÃO

A análise de especiação de antimônio inorgânico proposta no presente trabalho foi baseada no procedimento de extração e pré-concentração seletiva de uma espécie de Sb por ponto nuvem aliada a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. Dentre os complexantes utilizados na extração de elementos por ponto nuvem, pode-se citar, os ditiocarbamatos.

Os ditiocarbamatos ($R_2NCS_2^-$ ou $RNHCS_2^-$) pertencem a uma classe geral de ligantes monoaniônicos 1,1 ditiolato. São compostos estáveis em pH neutro e básico, com exceção dos compostos derivados de aminas primárias (HOGARTH, 2012; PYTLAKOWSKA, KOZIK e DABIOCH, 2013). Os ditiocarbamatos, em condições ácidas, se decompõe em amina livre e dissulfeto de carbono. Além disso, formam complexos com todos os elementos de transição e vários estados de oxidação (Hogarth, 2005). Os ditiocarbamatos apresentam capacidade para estabilizar íons metálicos de baixa e alta valência, devido aos tautômeros de ditiocarbamato e *thioureide* (em inglês) (HOGARTH, 2012). As formas ressonantes do ditiocarbamato e *thioureide* estão apresentadas na Figura 3.1.

Figura 3.1. Estrutura química geral do ditiocarbamato e formas ressonantes



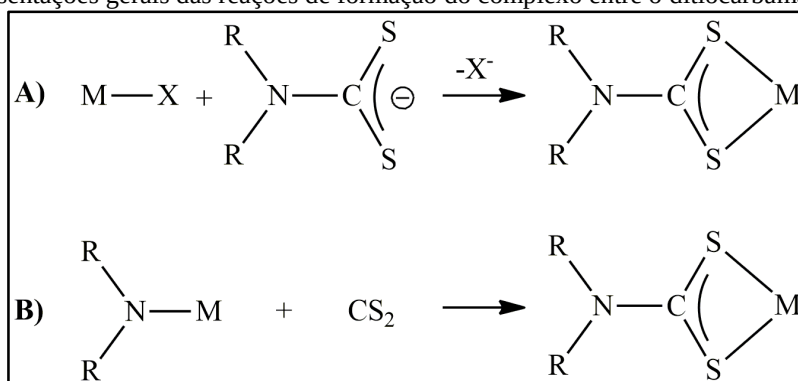
Fonte: Adaptado de Hogarth (2012)

Como mostra a Figura 3.1, a estrutura química do ditiocarbamato sugere a presença de um par de elétrons isolados localizados no nitrogênio (sp^3), em que o átomo deve ter uma geometria piramidal, enquanto o *thioureide* apresenta geometria planar (sp^2) com o par de elétrons do N deslocalizado na ligação de carbono-nitrogênio, adquirindo caráter de dupla

ligação, e nos átomos de enxofre. Dessa forma, o ditiocarbamato é considerado um ligante doador mole, ligando-se a átomos de metal de baixa valência. Já, o seu tautômero, apresenta carga negativa no enxofre, sendo considerado um ligante doador duro, e favorecendo a ligação com metais de alta valência (HOGARTH, 2012).

Os conceitos sobre ácidos e bases duros e moles foram descritos por Pearson (1967). Segundo este autor, o átomo da base doadora mole apresenta alta polarizabilidade, baixa eletronegatividade, é facilmente oxidado e associado a orbitais vazios e de baixa valência, enquanto, o átomo da base doadora dura apresenta baixa polarizabilidade, alta eletronegatividade, é difícil de oxidar e associado a orbitais vazios de alta valência e, portanto, inacessível. Como exemplos, pode-se citar o H_2O , OH^- , PO_4^{2-} , SO_4^{2-} e NO_3^- como bases duras; o R_2S , RSH , RS^- , SCN^- e CN^- como bases moles; e $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, N_3^- , NO_2^- e SO_3^{2-} como intermediário. Em relação aos ácidos, o átomo do ácido receptor mole apresenta baixa carga positiva, tamanho grande e possui vários elétrons externos facilmente excitados, enquanto o átomo do ácido receptor duro apresenta alta carga positiva, tamanho pequeno e não possui elétrons externos facilmente excitados (PEARSON e SONGSTAD, 1967). Como exemplos, pode-se citar o N, P, O, S, As e Sb(V) como ácidos duros; o I $^-$, Br $^-$ e Te como ácidos moles; e Sb(III) como intermediário. Dessa forma, os ácidos fortes se coordenam com bases fortes e vice-versa. Assim, o conhecimento da natureza (ácido ou base mole/dura) contribui para explicar a complexação dos elementos pelo agente complexante. A formação do complexo ditiocarbamato com o elemento pode ocorrer por diferentes rotas, dependendo das condições do meio. Entre elas podem ser citados dois mecanismos gerais, mostrados na Figura 3.2.

Figura 3.2. Representações gerais das reações de formação do complexo entre o ditiocarbamato e o metal



Fonte: Adaptado de Hogarth (2012)

Nota: X representa o contra-íon do metal

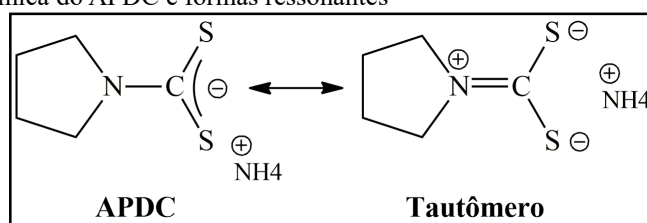
A Figura 3.2 mostra duas reações possíveis para formação do complexo de ditiocarbamato com o metal. A reação A representa a formação direta do complexo de

ditiocarbamato com o metal, por reações simples de deslocamento do ligante, após adição do sal de ditiocarbamato ao metal, com perda de ânions, contra-íon do metal (X). A reação B representa a interação do dissulfeto de carbono com o elemento previamente ligado à amina, formando o complexo com o metal (HOGARTH, 2012).

Na classe de ditiocarbamatos, existem vários tipos de ligantes, entre eles, xantate, carbamato, ditiofosfato, e outros sais de ditiocarbamatos com substituintes tais como a pirrolidina ditiocarbamato (HOGARTH, 2012).

Dessa forma, no presente trabalho foi utilizado como complexante a pirrolidina ditiocarbamato de amônio (*do inglês Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate* - APDC), que permite a formação de um complexo hidrofóbico com Sb no estado de oxidação +3 (JIANG, WEN e XIANG, 2010). O APDC é um ácido fraco ($pK_a = 3,2$) (SHAH et al., 2011) e é amplamente usado na formação de complexos levemente solúveis em soluções aquosas com diversos elementos químicos. Assim, com a formação dos complexos químicos é possível separar uma espécie do elemento de interesse da matriz, para posterior determinação dessa espécie (LEE e CHOI, 2001). Diante disso, esse complexante é adequado para ser empregado na extração por ponto nuvem. A Figura 3.3 mostra a estrutura do APDC e sua forma ressonante.

Figura 3.3. Estrutura química do APDC e formas ressonantes



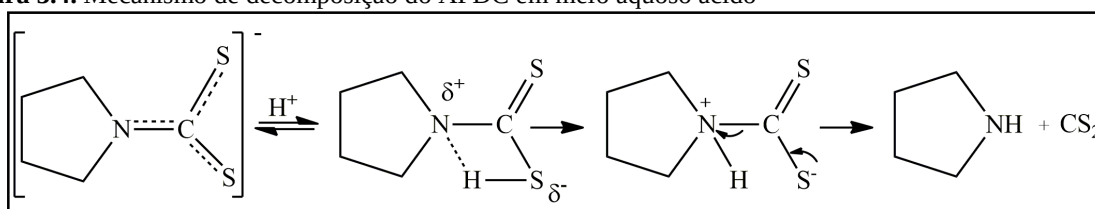
Fonte: Adaptado de Subramanian e Meranger (1981) e Hogarth (2012)

A Figura 3.3, mostra a estrutura química do APDC. Como observado o comportamento do APDC compreende o mesmo comportamento dos ditiocarbamatos em geral, como comentado anteriormente. A estrutura química do APDC apresenta um átomo de N com par de elétrons livres (sp^3) que atua como ligantes doadores moles e se ligam a átomos de baixa valência (moles). O seu tautômero (sp^2) com par de elétrons deslocalizados entre as ligações C-N e os átomos de S, é um ligante doador duro e forma ligações com elementos de maior valência (HOGARTH, 2012). Assim, o APDC atua de forma a estabilizar uma ampla faixa de estados de oxidação e geometrias de coordenação (PYTLAKOWSKA, KOZIK e DABIOCH, 2013). A geometria do APDC depende da forma como ocorre a ligação com o metal para formação do

complexo, sendo a forma piramidal para o APDC (sp^3) e planar para o tautômero do APDC (sp^2) (HOGARTH, 2012).

Os pares de elétrons livres na molécula permitem formar complexos com espécies metálicas, podendo esta complexação ser influenciada pela estabilidade hidrolítica, sendo que em meio ácido o APDC, se decompõe. A Figura 3.4 mostra a representação do mecanismo de decomposição deste complexante em meio aquoso ácido.

Figura 3.4. Mecanismo de decomposição do APDC em meio aquoso ácido



Fonte: Adaptado de Subramanian e Meranger (1981) e Hogarth (2012)

A Figura 3.4, mostra o mecanismo de decomposição do APDC em meio aquoso ácido. Como pode ser observado, em meio ácido (valores de pH abaixo de 2,0), o APDC é protonado e decomposto à amina e carbono dissulfeto. Assim, como foi mostrado nos mecanismos de formação do complexo (Figura 3.2), a complexação do APDC com o Sb, pode ocorrer por diferentes rotas, dependendo das condições do meio.

O Sb pode estar presente em solução em espécies e formas diferentes dependendo do pH, potencial redox e da presença de ligantes. Em um meio na ausência de outras espécies que não H_3O^+ e OH^- , o Sb pode formar várias espécies dependendo somente do pH do meio. Em uma região muito ácida ($pH < 2,0$), o Sb(III) pode estar em solução nas formas de SbO^+ (ou $Sb(OH)_2^+$). Em uma faixa de pH entre 2,0 e 10,4, as espécies de Sb(III) são o H_3SbO_3 e $Sb(OH)_3$. Para $pH > 10,4$ a forma majoritária é o $Sb(OH)_4^-$ (ou SbO_2^- hidratado) (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a; UNGUREANU et al., 2015). Enquanto que, o Sb(V) pode ser encontrado em solução na forma de SbO_2^+ em condições muito ácidas ($pH < 2$), H_3SbO_4 em pH na faixa de 2,0 a 2,7, e $H_2SbO_4^-$, $[Sb(OH)_6]^-$ (ou SbO_3^-) em condições ácidas, neutras e básicas (pH acima de 2,7) (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a).

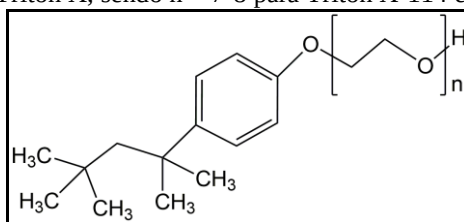
De acordo com a literatura forma-se um complexo do APDC e Sb(III) por meio da possível interação dos átomos de enxofre (S) da molécula de APDC com o Sb(III) que pode ser encontrado na forma de SbO^+ (ou $Sb(OH)_2^+$) e $Sb(OH)_4^-$ (ou SbO_2^- hidratado) em pH de 2,0 a 10,0 (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a). Contudo, é conhecido que o APDC pode complexar outros elementos metálicos tais como Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , entre outros e pode não ser considerado seletivo para espécies de Sb (LEE e CHOI, 2001). O Sb(V) pode ser encontrado

em solução na forma de SbO_2^+ e $[\text{Sb}(\text{OH})_6]^-$ (ou SbO_3^-) na faixa de pH de 2,0 a 10,0 (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a). Assim, possivelmente com a aplicação de um pH adequado, a complexação seletiva com as diferentes espécies de Sb é possível, fato este importante para avaliação da especiação de Sb.

Além da complexação seletiva de espécies de Sb por um agente complexante hidrofóbico, para uma extração por ponto nuvem necessita-se de escolher o surfactante adequado e eficiente para a formação do ponto nuvem e extração da espécie de interesse. Os surfactantes atuam modificando o meio reacional permitindo solubilizar espécies de baixa solubilidade ou ainda modificar a velocidade reacional (VANINI et al., 2013).

Alguns procedimentos de extração por ponto nuvem estão descritos na literatura e utilizam diferentes tipos de surfactantes, tais como surfactantes aniônicos, catiônicos, anfóteros e não-iônicos (MANIASSO, 2001). Os surfactantes não-iônicos apresentam grande aplicabilidade para EPN, devido ao fato de apresentarem baixa temperatura de ponto nuvem, disponibilidade comercial, além de não apresentar toxicidade. Entre os surfactantes não-iônicos, pode-se citar o Triton X-114 (éteres 7-8 octilfenóxi polioxietilenados) e Triton X-100 (éteres 9-10 octilfenóxi polioxietilenados), os quais pertencem à classe de surfactantes éteres octilfenóxi polioxietilenados $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}$) e se diferenciam pela estrutura química (PYTLAKOWSKA, KOZIK e DABIOCH, 2013). A estrutura do Triton X está apresentada na Figura 3.5.

Figura 3.5. Estrutura química do Triton X, sendo $n = 7-8$ para Triton X-114 e $n = 9-10$ para Triton X-100



Fonte: Adaptado de Patil e Patil (2010)

O Triton X-100 apresenta uma cadeia mais longa, com grupos $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ ($n=9-10$) e o Triton X-114 apresenta uma cadeia menor, com grupos $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ ($n=7-8$). O número de grupamentos $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ da cadeia do surfactante pode interferir na formação do ponto nuvem, pois afeta a solubilidade do surfactante em meio aquoso. Além da estrutura, o Triton X-114 apresenta uma temperatura de ponto nuvem relativamente mais baixa e uma alta densidade da fase rica em surfactante, em comparação com o Triton X-100. Isso facilita a separação de fases por centrifugação, bem como pela ausência de grupos eletroativos em sua molécula (SUSSULINI e ARRUDA, 2006). Além disso, de uma forma geral, ambos os surfactantes da

classe dos tritons, formam micelas com a parte interior hidrofóbica e a parte exterior hidrofílica. Isso permite essas micelas apresentarem capacidade de solubilização de diversos analitos de características e natureza diferentes, por interação eletrostática, hidrofóbica, ou combinação de ambas (QUINA e HINZE, 1999; CARABIAS-MARTÍNEZ et al., 2000). Esses surfactantes não apresentam toxicidade, apresentam baixo custo e a disposição dos resíduos finais é facilitada devido a possibilidade de incineração (SUSSULINI e ARRUDA, 2006).

Assim, na otimização e implantação de um método para a determinação seletiva de Sb empregando extração e pré-concentração por ponto nuvem, os fatores avaliados foram o pH para extração seletiva de Sb(III), tipo e concentração de surfactante, concentração de complexante (APDC), pH e extração de Sb(total). O programa de aquecimento do forno de grafite foi otimizado e um estudo de validação foi realizado para os parâmetros linearidade, LOD, LOQ, precisão e exatidão. Após otimização e validação, um estudo de especiação de Sb foi conduzido em amostras de água mineral brasileiras e com amostras de água mineral da França e Paraguai. Além disso, um estudo de migração de Sb a partir da embalagem PET foi realizado, usando a própria água mineral e também simulantes (água e ácido acético). Além dos estudos de migração, os fatores que influenciam na lixiviação de Sb, tais como o volume, a coloração da embalagem, a presença de CO₂, entre outros, foram avaliados.

3.2 PARTE EXPERIMENTAL

3.2.1 Procedimento de Técnicas Limpas, Reagentes e Instrumentação

Técnicas limpas foram utilizadas visando minimizar possíveis processos de contaminações (CAMPOS, BENDO e VIEL, 2002; DOS ANJOS, ABATE e GRASSI, 2010). Nesse sentido, os materiais utilizados foram lavados com detergente comercial neutro, escova e água corrente, e enxaguados por cinco vezes com água corrente e três vezes com água destilada. Em seguida, os materiais foram mantidos em banho de HNO_3 5% (v/v) em recipiente plástico com tampa, por no mínimo 24 horas. Então, os materiais foram retirados do banho ácido, enxaguados por cinco vezes com água do tipo ultrapura, e foram secos em bandejas plásticas descontaminadas. Ao fim, os materiais secos foram armazenados em sacos plásticos. Durante o processo de limpeza e realização das análises, as bandejas e bancada foram descontaminadas com solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), pH 5. O EDTA age complexando as espécies metálicas que podem estar presentes nas bancadas ou bandejas, diminuindo o risco de contaminação de reagentes e amostras. Os materiais descontaminados e amostras foram manuseados com luvas de procedimento sem talco.

Todos os reagentes utilizados foram de pureza adequada (acima de 97%) e o preparo de soluções foram realizadas com água ultrapura do tipo Milli-Q (Milipore, modelo SIMPAKKR1).

As soluções padrão de Sb(III) foram preparadas com Sb_2O_3 (Sigma Aldrich) e solubilização com $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl (Sigma Aldrich). As soluções padrão estoque de 1000 mg L^{-1} de Sb(III) foram preparadas mensalmente e diluições adequadas da solução estoque foram realizadas diariamente para preparação das soluções de trabalho. As soluções padrão para Sb(V) foram preparadas pela diluição da solução padrão de 1000 mg L^{-1} (Sigma Aldrich).

Outros reagentes utilizados foram a pirrolidina ditiocarbamato de amônio (Sigma Aldrich) como complexante de Sb, surfactantes Triton X-114 e Triton X-100 (Sigma Aldrich), HNO_3 (Carlo Erba), HCl (Sigma Aldrich) e metanol (J. T. Baker).

A determinação de antimônio foi realizada em um espectrômetro de absorção atômica (SpectrAA 240Z, Varian), com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GTA 120), equipado com um corretor de fundo com efeito Zeeman, e um amostrador automático (PSD 120). A lâmpada de cátodo-oco monoelementar para Sb foi empregada operando a 10 mA, no comprimento de onda de 217,6 nm e fenda de 0,2 nm (Varian, Agilent). O forno de grafite

utilizado foi um tubo de grafite pirolítico (Varian). Não foi utilizado modificador químico para quantificação de Sb.

A digestão das amostras de embalagem PET foi realizada em um equipamento de Sistema de Digestão por Micro-ondas (Start D Milestone) com capacidade para 24 amostras, acoplado a um microprocessador Beta Eletronic.

Outros equipamentos foram usados, tais como uma centrífuga (80-2B Centrifuge), uma chapa de aquecimento (SPLabor), um banho ultrassônico (Unique, model USC 2800A, 40 kHz), um potenciômetro Metrohm acoplado a um eletrodo de vidro combinado Ag/AgCl (model 827 pH Lab, Metrohm) e uma Incubadora Shaker (SPLabor, modelo SP222), entre outros.

3.2.2 Amostras

A determinação de Sb total e especiação em amostras de água mineral foi avaliada empregando o protocolo analítico otimizado e validado. 39 amostras de água mineral foram estudadas, sendo 36 amostras de água mineral brasileiras envasadas em embalagens PET obtidas no comércio de diferentes cidades do Paraná e Santa Catarina (A1 a O1), 2 amostras de água mineral obtidas no comércio da França (P1 e Q1) e 1 amostra de água mineral obtida no comércio do Paraguai (R1). As amostras adquiridas foram escolhidas conforme data recente de envase e imediatamente analisadas. Após abertas, essas amostras foram mantidas em local ventilado e na ausência de luz, de modo a evitar a modificação das propriedades da água envasada em PET pela influência de fatores externos. As análises foram realizadas em triplicata pelo método validado. A Tabela 3.1 mostra informações referentes as amostras utilizadas nesse estudo. As siglas utilizadas na identificação das amostras foram escolhidas para diferenciar as marcas usadas (letras) e lotes diferentes (numeração). Todas as amostras foram naturais com exceção das amostras A1, A4, B7 e C12 que são carbonatadas. A Figura 3.6 mostra as diferenças de coloração das embalagens das amostras.

Tabela 3.1. Informações das amostras de água mineral utilizadas na especiação de Sb por EPN e determinação por GF AAS

Amostra	Tipo de embalagem	Coloração	Marca	pH	Volume (mL)*	Data de envase
A1**	PET	Levemente azul	A	6,42	510	10/2015
A2	PET	Levemente azul	A	5,84	510	04/2016
A3	PET	Levemente azul	A	5,84	510	04/2017
A4**	PET	Levemente azul	A	4,84	510	05/2017
A5	PET	Azul escuro opaco	A	5,84	510	05/2017
B1	30% de PET a base de planta	Incolor	B	8,66	500	10/2015
B2	30% de PET a base de planta	Incolor	B	8,66	500	04/2016
B3	30% de PET a base de planta	Incolor	B	8,66	500	04/2016
B4	PET	Incolor	B	7,37	350	04/2017
B5	30% de PET a base de planta	Incolor	B	8,45	500	04/2017
B6	30% de PET a base de planta	Incolor	B	8,45	1500	04/2017
B7**	30% de PET a base de planta	Incolor	B	4,94	500	04/2017
C1	PET	Azul claro translúcido	C	7,60	500	10/2015
C2	PET	Azul claro translúcido	C	7,60	500	04/2016
C3	PET	Azul claro translúcido	C	7,60	500	04/2016
C4	PET	Rosa translúcido	C	7,60	300	09/2015
C5	PET	Azul escuro opaco	C	7,60	300	07/2015
C6	PET	Azul claro translúcido	C	7,60	350	05/2017
C7	PET	Azul claro translúcido	C	7,60	500	05/2017
C8	PET	Azul claro translúcido	C	7,60	1500	05/2017
C9	PET	Incolor	C	7,60	300	05/2017
C10	PET	Rosa translúcido	C	7,60	300	05/2017
C11	PET	Azul escuro opaco	C	7,60	300	05/2017
C12**	PET	Azul claro translúcido	C	5,53	500	05/2017
D1	PET	Incolor	D	6,68	502	10/2015
E1	PET	Incolor	E	9,75	510	05/2016
F1	PET	Incolor	F	7,50	500	05/2016
G1	PET	Azul escuro translúcido	G	7,20	510	05/2016
H1	PET	Incolor	H	9,45	500	04/2016
I1	PET	Azul escuro translúcido	I	6,70	510	04/2016
J1	PET	Incolor	J	7,89	510	08/2016
K1	PET	Rosa translúcido	K	6,80	510	08/2016
L1	PET	Azul escuro opaco	L	5,05	500	08/2016
M1	PET	Azul escuro translúcido	M	5,05	500	09/2016
N1	PET	Incolor	N	6,13	510	09/2016
O1	PET	Levemente azul	O	6,24	510	09/2016
P1	PET reciclável	Levemente azul	P	7,20	500	03/2017
Q1	PET reciclável	Levemente azul	Q	7,20	500	03/2017
R1	PET	Incolor	R	9,00	500	08/2017

*Volume da garrafa de água mineral adquirida para análise; **Amostra de água mineral gaseificada.

Data de validade das amostras, segundo a embalagem: 12 meses

Fonte: A autora

Figura 3.6. Fotografia das diferentes colorações de embalagens PET das amostras de água mineral utilizadas na especiação de Sb

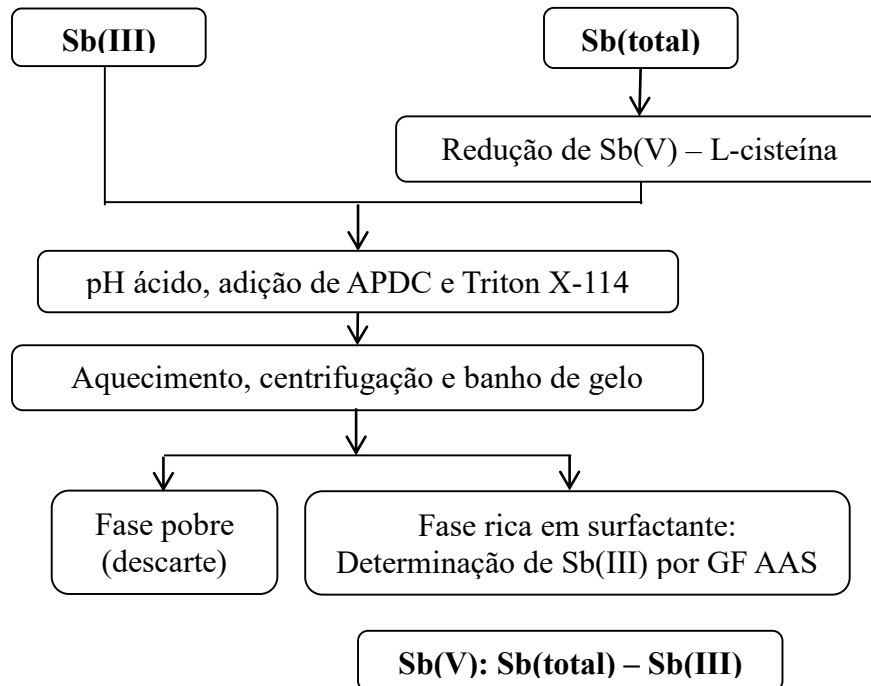


Fonte: A autora

3.2.3 Procedimento Geral Empregado na Análise de Especiação de Sb por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização eletrotérmica em Forno de Grafite (GF AAS) e Extração e Pré-concentração por PN

Inicialmente, o pH da amostra ou da solução padrão de Sb foi ajustado em 2,0 com o uso de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl. Posteriormente, em 6,0 mL de amostra foi adicionado 0,5 mL de solução de APDC (3,5%, m/v) e 1,0 mL de solução de Triton X-114 (3,0 %, v/v). Em seguida, a solução foi completada com água ultrapura, para um volume final de 10,0 mL. Após, a solução foi aquecida a $50 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em banho maria por 15 min., centrifugada durante 10,0 min com rotação de 2500 rpm e, mantida em banho de gelo ($4 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Nessa etapa, formam-se duas fases, na qual a fase rica em surfactante contém o analito e é utilizada para quantificação de Sb(III) por GF AAS. O procedimento para quantificação de Sb(total) é similar à quantificação de Sb(III), porém há uma etapa prévia de redução de Sb(V) para Sb(III) utilizando L-cisteína 3,0% (m/v) e aquecimento $80 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 min. O Sb(V) é determinado pela diferença entre o Sb(total) e o Sb(III) quantificado. O procedimento implantado para a especiação de Sb está apresentado na Figura 3.7.

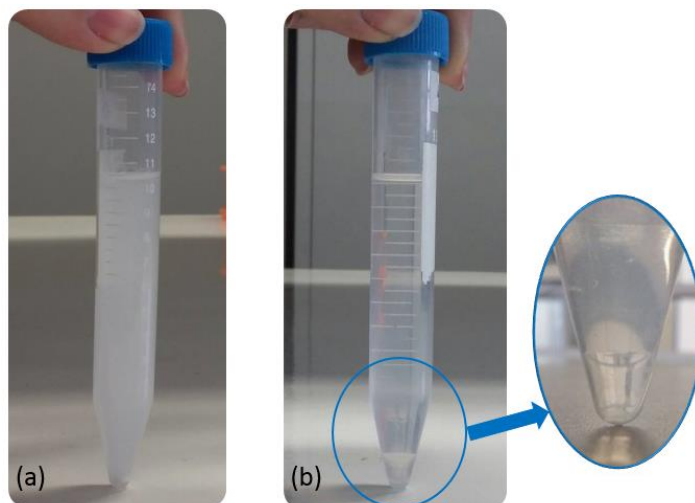
Figura 3.7. Fluxograma do procedimento adotado na especiação de Sb empregando extração e pré-concentração por ponto nuvem e GF AAS



Fonte: A autora

A Figura 3.8, mostra a formação do ponto nuvem após realização do procedimento descrito acima.

Figura 3.8. Fotografias representativas das etapas da técnica de extração por ponto nuvem. (a) Solução contendo analito, complexante (APDC) e surfactante (Triton X) após aquecimento e com formação do ponto nuvem. (b) Separação de uma fase rica e outra fase pobre em surfactante obtida após centrifugação e banho de gelo 4°C



Fonte: A autora

A implantação do protocolo analítico adotado envolveu avaliar as melhores condições para formação do ponto nuvem (PN) com estudos do tipo e concentração de surfactante, agentes redutores, pH, e agente complexante. Além disso, foi otimizada a condição de quantificação do Sb por GF AAS através do estudo de diluentes e do programa de aquecimento do forno de grafite.

3.2.3.1 Avaliação do programa de aquecimento do forno de grafite na determinação de Sb por GFAAS extraído por PN

A otimização do programa de aquecimento do forno de grafite empregando na determinação de Sb foi realizada com estudos univariados e com solução em condições similares às amostras extraídas com PN contendo $30,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) em meio ácido ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3) com 0,01 % (v/v) de Triton X-114 e 10,0 % (v/v) de metanol. No estudo da temperatura de pirólise foi empregada temperatura fixa de 2000°C para atomização e foi variada a temperatura de pirólise na faixa de 600 a 1000°C . Após o estabelecimento da melhor condição de pirólise (800°C), variou-se a temperatura de atomização entre 1700 e 2100°C . Os sinais de absorbância e sinal de fundo (background, BG) foram avaliados. As medidas foram obtidas em triplicata.

3.2.3.2 Avaliação das condições de extração e pré-concentração de Sb por ponto nuvem (EPN)

Um dos ensaios de avaliação das condições de extração de Sb foi conduzido com dois tipos de surfactante neutro (não iônico), o Triton X-100 e Triton X-114. Este surfactante foi escolhido, pois é comumente utilizado em procedimentos de extração e pré-concentração de elementos. Este teste foi realizado de forma univariada, visando verificar o comportamento de ambos os surfactantes na extração do elemento de interesse. Assim, foi empregada solução padrão com $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) a pH 5,0, e adicionado 0,5 mL de solução 2,5% (m/v) de APDC e 1,0 mL de solução 2,0% (v/v) de Triton X-100 ou X-114. A formação do PN foi avaliada com temperaturas de 50 ± 2 e $80 \pm 2^\circ\text{C}$, para Triton X-114 e Triton X-100, respectivamente.

Com o tipo de surfactante pré-definido para o estudo foi avaliada a influência do pH do meio (2,0 a 6,0) na extração e seletividade do APDC para as espécies de Sb(III) e Sb(V). Esse estudo foi conduzido com soluções Sb contendo $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) ou de Sb(V), em separado, de modo a avaliar a extração das espécies em diferentes pH. As soluções foram preparadas a pH 5,0, e adicionado 0,5 mL de solução 2,5% (m/v) de APDC e 1,0 mL de solução

2,0% (v/v) de Triton X-114. Em todos os estudos foi realizado a análise do controle, sem a presença de Sb.

Em seguida, com o surfactante definido e o pH seletivo para extração de Sb(III) foram avaliadas as concentrações de APDC e surfactante (Triton X-114) na formação do PN. Este estudo foi conduzido por planejamento fatorial do tipo 2^2 com ponto central. Soluções com $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) em pH 2,0 foram empregadas na formação do PN em temperatura de $50 \pm 2^\circ\text{C}$ por 15 min. A análise do ponto central foi realizada em triplicata. A Tabela 3.2 mostra os fatores e os níveis do planejamento.

Tabela 3.2. Planejamento fatorial 2^2 com ponto central utilizado no estudo das condições experimentais para formação do PN e extração de Sb(III)

Fator	Nível (-)	Nível (+)	Ponto central (PC)
A-Triton X-114 (%) (v/v)	0,10	0,30	0,20
B-APDC (%) (m/v)	0,075	0,175	0,125

Fonte: A autora

Após a formação do PN e extração do complexo Sb-APDC foram realizadas a determinação do Sb por GF AAS e a resposta do planejamento foi avaliada em concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) de Sb. Com os dados, os efeitos do planejamento fatorial foram calculados através da diferença das médias das respostas nos níveis (+) e (-), respectivamente, como representada na equação 3.1:

$$E_f = (\bar{R}^+) - (\bar{R}^-) \quad (3.1)$$

sendo que E_f significa o efeito dos fatores, e R^+ e R^- são a diferença das médias dos resultados obtidos nos níveis (+) e (-), respectivamente.

A significância dos efeitos foi avaliada pela aplicação de teste-t e gráfico de Pareto, em um nível de 95% de confiança. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software *Minitab for Windows versão 16.2.2* (MINITAB, 2010).

3.2.3.3 Estudo do processo de redução química de Sb(V) para Sb(III) na quantificação da concentração total de Sb através da extração por PN e GF AAS

No procedimento analítico utilizado na especiação de Sb, ocorre a extração de Sb(III) da amostra e quantificação por GF AAS. Para a determinação do Sb(V) é necessário que seja realizada a redução do Sb(V) para Sb(III) com o uso de L-cisteína. Em seguida, é realizada a extração por ponto nuvem, com complexação do Sb(III) pelo APDC e formação do PN. As condições de redução foram avaliadas com solução padrão contendo $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(V) com 0,5 ou 1,0% (m/v) de L-cisteína e com ou sem aquecimento (ebulição 15 min.).

A influência do pH (2,0 a 6,0) no processo de extração e formação do PN também foi avaliada. Soluções contendo $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(V) foram utilizadas após processo de redução do Sb(V) para Sb(III) com L-cisteína.

3.2.4 Avaliação de Parâmetros de Mérito do Procedimento utilizado na Especificação de Sb

3.2.4.1 Calibração, linearidade e fator de enriquecimento (FE)

A calibração instrumental da determinação de Sb em extratos de fase rica por GF AAS escolhida foi a padronização externa, devido a maior facilidade e frequência analítica na determinação desta espécie. Foram avaliadas diferentes curvas analíticas na faixa de $10,0$ a $40,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de acordo com a Tabela 3.3. Para algumas curvas, as soluções padrão de Sb foram submetidas ao procedimento de EPN (pré-concentradas) e outras não foram extraídas por PN (sem pré-concentração). As diferentes curvas foram construídas de modo a escolher a forma de calibração instrumental adequada.

Tabela 3.3. Condições diferentes de preparo das curvas analíticas para determinação de Sb por EPN e GF AAS

Curva	Curvas analíticas usadas na calibração instrumental
1	Solução padrão aquosa de Sb(III) submetida ao procedimento de EPN
2	Solução padrão aquosa de Sb(V) submetida ao procedimento de EPN após a redução de Sb(V) para Sb(III)
3	Solução Padrão de Sb(III) com $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 sem procedimento de EPN
4	Igual curva 3 com adição de Triton X-114 (0,01%, v/v)
5	Igual curva 3 com adição de Triton X-114 (0,01%, v/v) e Metanol (10,0 %, v/v)
6	Igual curva 3 com adição de Triton X-114 (0,01%, v/v) e Metanol (1,0 %, v/v)
7	Igual curva 3 com adição de Triton X-114 (0,01%, v/v) e Etanol (10,0 %, v/v)

Fonte: A autora

Após a escolha da forma adequada de calibração instrumental para determinação de Sb, foi estabelecida a faixa linear da curva analítica com o preparo de três curvas analíticas independentes com concentração que variou entre $6,0$ e $30,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb. A linearidade do método foi avaliada pela análise de regressão linear e teste de falta de ajuste em um nível de 95% de confiança (ARAUJO, 2009; BARROS NETO, SCARMÍNIO e BRUNS, 2007). A significância dos coeficientes da equação de reta foi avaliada pelo teste-t.

O fator de enriquecimento (FE) para Sb(III) e Sb(total) foi determinado através da comparação das curvas analíticas obtidas com e sem a extração por ponto nuvem. O FC foi calculado através da razão entre a inclinação da curva obtida com a EPN e a inclinação da curva de Sb em meio de Triton X-114 e HNO_3 /metanol (sem pré-concentração).

3.2.4.2 Limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para determinação de Sb por EPN

Inicialmente foram realizadas 10 medidas do controle analítico (branco) por GF AAS. O controle foi preparado com água ultrapura do tipo Milli-Q, APDC e Triton X-114 em pH 2,0, corrigido com HCl ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$).

O valor de LOD foi calculado baseado na razão entre a estimativa de desvio padrão das 10 medidas do branco e a inclinação da curva analítica, multiplicado por um fator de 3 (ARAUJO, 2009; ICH, 1996). O LOQ foi calculado baseado na razão entre o desvio padrão de 10 medidas do branco e a inclinação da curva analítica, multiplicado por um fator de 10 (ARAUJO, 2009; ICH, 1996).

3.2.4.3 Precisão

A precisão foi avaliada pela repetitividade e precisão intermediária (AOAC, 2012; GONZÁLEZ, HERRADOR e ASUERO, 2010). A repetitividade do método foi avaliada pela determinação de Sb(III), em amostra de água mineral comercial (fabricante B) não enriquecida com Sb, após extração por ponto nuvem em triplicata com medidas realizadas no mesmo dia. Os testes de precisão intermediária foram conduzidos de modo similar à repetitividade do método, porém com medidas realizadas durante cinco dias consecutivos. Os valores de desvios padrão relativos (DPR) foram calculados a partir dos dados de concentração obtidos para Sb(III), em triplicata. Para verificar a confiabilidade das estimativas de precisão intermediária foram também obtidos valores Horrat usando os resultados de uma análise de variância (ANOVA), característica do modelo hierárquico a 95% de confiança (valor de Horrat aceitável $< 1,3$) (GONZÁLEZ, HERRADOR e ASUERO, 2010).

3.2.4.4 Estudo de interferência de íons

Estudo de interferência de outras espécies metálicas no procedimento foi realizado usando solução contendo $15,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) e $10,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de cada uma das espécies de Cu^{2+} , Pb^{2+} e Cd^{2+} . Após, o procedimento de extração por ponto nuvem realizou-se a determinação de Sb(III) por GF AAS.

3.2.4.5 Exatidão

A exatidão foi avaliada por meio de testes de recuperação em triplicata com duas concentrações de cada espécie de Sb ($2,0$ e $10,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) (NATA, 2012). A concentração menor foi escolhida considerando a legislação Japonesa ($2,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$). O estudo de recuperação foi realizado em amostras de água mineral envasadas em PET e vidro, água de rio filtrada com

membrana de 0,45 μm de porosidade e água de torneira. As amostras de água mineral foram adquiridas em comércio local (Ponta Grossa, Paraná, Brasil). A amostra de água de rio foi coletada no Arroio Santa Luísa (Ponta Grossa, Paraná, Brasil). A amostra de água de torneira foi coletada no dia da análise, na Universidade Estadual de Ponta Grossa (Ponta Grossa, Paraná, Brasil). Inicialmente, os teores de Sb(III) e Sb(total) foram determinados nas amostras em triplicata e posteriormente as amostras foram enriquecidas e realizou-se a determinação conforme protocolo otimizado.

3.2.5 Avaliação da Especificação de Sb em Amostras Brasileiras de Água Mineral Envasadas em Embalagens PET e Estudos de Migração

3.2.5.1. Determinação da concentração total de Sb em embalagens PET

As concentrações totais de Sb nas embalagens PET utilizadas para o envase de água mineral foram determinadas por GF AAS após procedimento de digestão por micro-ondas. 14 amostras de água mineral de 03 marcas diferentes, foram adquiridas e utilizadas nessa etapa do trabalho. O conteúdo das embalagens foi retirado e foi realizada a lavagem com detergente neutro, água corrente, seguido de banho ácido por 3 minutos em ultrassom, enxágue com água ultrapura e secagem das garrafas PET à temperatura ambiente. As mesmas foram cortadas em dimensões de 0,8 cm x 0,8 cm. No processo de digestão da amostra, 0,1 g de PET foram colocados em tubos de teflon e foi adicionado 4,0 mL de ácido nítrico (65,0 %) e 1,0 mL de ácido clorídrico (37,0 %) (WESTERHOFF et al., 2008; CHAPA-MARTÍNEZ et al., 2016). Os tubos foram fechados e realizou-se a digestão da amostra por digestão em micro-ondas. A condição de aquecimento utilizada no equipamento consistiu de uma rampa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até aquecimento à 180°C . Quando atingiu a temperatura de 180°C , foi mantido um patamar durante 15 minutos nessa temperatura. Após resfriamento, as amostras foram transferidas para balões volumétricos de 50,0 mL e o volume foi completado com água ultrapura do tipo Milli-Q.

Além das amostras, foram preparados os brancos do procedimento de digestão por micro-ondas. O branco foi preparado com 4,0 mL de ácido nítrico (65,0 %) e 1,0 mL de ácido clorídrico (37,0 %), seguido do procedimento de digestão por micro-ondas como descrito para as amostras, no entanto, sem adição da embalagem PET. Um teste de adição e recuperação também foi realizado, de modo a verificar se o método de digestão apresentou eficiência na digestão da embalagem PET e confiabilidade na determinação dos teores de Sb nas embalagens. Para o estudo de recuperação foi utilizado 0,1 g uma amostra de garrafa PET (marca B), com

adição de 100 mg kg^{-1} de padrão de Sb(III), e 4,0 mL de ácido nítrico (65,0 %) e 1,0 mL de ácido clorídrico (37,0 %), seguido do procedimento de digestão por micro-ondas como descrito para as amostras. Ao fim foi determinada a concentração de Sb por GF AAS e obtido o valor de recuperação.

As determinações por GF AAS foram conduzidas com padronização externa na faixa de 10,0 a $50,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ usando padrão aquoso de Sb(III) em meio de ácido nítrico ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$). As medidas foram obtidas em triplicata. As amostras foram preparadas em duplicata.

3.2.5.2 Determinação de Sb(III) e Sb(V) nas amostras de água mineral

As determinações de Sb total e Sb(III) nas 39 amostras de água mineral envasadas em garrafa PET foram realizadas por extração em ponto nuvem e determinação por GF AAS logo após aquisição das mesmas (próximas às datas de envase). Para 05 amostras (B1, C1, C4, C5 e D1) as determinações foram conduzidas após 1, 3 e 6 meses (B1, C1 e D1), 2, 4 e 7 meses (C4) e 4, 6 e 9 meses (C5) de armazenamento. Para esse estudo de influência do tempo, as amostras foram mantidas sob condições de temperatura ambiente e ao abrigo de luz.

3.2.5.3 Avaliação da influência das condições de armazenamento na migração de Sb de embalagens PET e sua especiação em água mineral

O estudo de influência das condições de armazenamento na migração de Sb a partir da embalagem PET foi realizado com amostra de água mineral (fabricante B). A amostra do fabricante B foi escolhida para os estudos, pois foi a amostra que apresentou maior aumento de Sb com o aumento do tempo. Três amostras de água mineral do fabricante B foram utilizadas para o estudo. A concentração inicial de Sb na amostra foi obtida pelo procedimento de EPN com determinação por GF AAS. Em seguida, as amostras foram submetidas a diferentes condições de armazenamento. Uma das amostras de água mineral foi submetida à refrigeração (4°C), outra amostra foi mantida em temperatura ambiente e ao abrigo de luz, e a última amostra foi mantida em local aberto, sob presença de radiação solar e temperatura externa. Todas as amostras de água mineral foram mantidas na embalagem PET durante 24 h, 48 h e 168 h (7 dias) sob diferentes condições de armazenamento. Para cada tempo, alíquotas foram retiradas e submetidas ao procedimento de EPN e posteriormente, as concentrações de Sb foram determinadas por GF AAS.

O estudo da influência da temperatura na migração de Sb a partir da embalagem PET também foi realizado. Para este estudo foi utilizado amostras de água mineral do fabricante B. A concentração inicial de Sb na amostra foi obtida pelo procedimento de EPN com

determinação por GF AAS. Em seguida, as amostras foram submetidas a diferentes temperaturas (18, 35, 50, 65 e 80°C), utilizando um equipamento Shaker (18 a 65°C) e uma estufa (80°C). As amostras foram avaliadas após 30 e 60 minutos de contato, para cada temperatura. Para cada tempo e temperatura, alíquotas foram retiradas e submetidas ao procedimento de EPN e posteriormente, as concentrações de Sb foram determinadas por GF AAS.

3.2.5.4 Avaliação da migração de Sb de embalagens PET e sua especiação em simulantes

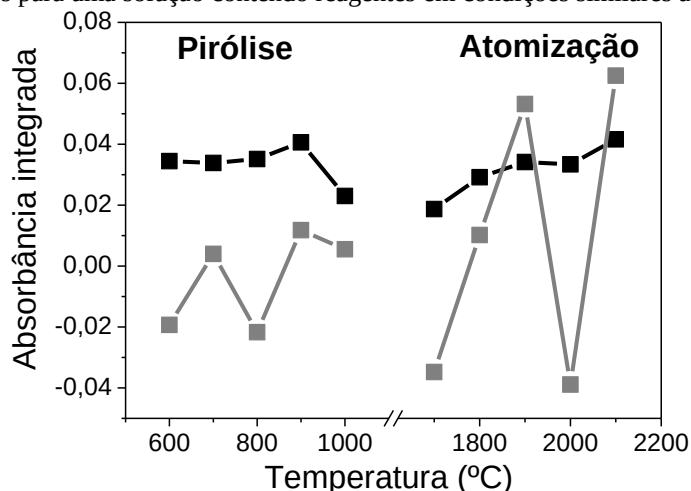
Os ensaios de migração de Sb a partir da embalagem PET foram realizados com dois simulantes (água e ácido acético). Esse estudo foi realizado para 03 fabricantes de diferentes colorações, A (azul escuro opaco), B (incolor) e C (azul claro translúcido). Duas amostras de água mineral de cada fabricante foram utilizadas neste estudo. A água mineral contida nas amostras foi retirada e as embalagens foram lavadas com detergente neutro, mantidas em contato em banho ácido por 5 minutos no ultrassom e em seguida, foram lavadas com água ultrapura. Após secas as embalagens, foi realizado o estudo, em que uma das embalagens foi preenchida com água ultrapura e a outra embalagem, com solução de ácido acético e mantidas em contato por 1 h, 24 h, 168 h (7 dias) e 240 h (10 dias). Esse procedimento foi realizado para os 03 fabricantes avaliados. Para cada tempo, alíquotas foram retiradas e submetidas ao procedimento de EPN e posteriormente, as concentrações de Sb foram determinadas por GF AAS.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Otimização das Condições de Análise de Amostras Pré-Concentradas por PN

A extração seletiva de espécies de Sb empregando APDC e formação de ponto nuvem foi o método proposto para análise de especiação de Sb. A formação do ponto nuvem se caracteriza por uma solução viscosa contendo um agente complexante hidrofóbico em meio de surfactante. Devido a sua viscosidade da fase rica obtida no procedimento de ponto nuvem, foi necessário adicionar uma mistura de metanol e ácido nítrico como diluente para diminuir a viscosidade da fase rica em surfactante de modo a solubilizá-la e assim facilitar a análise por absorção atômica e consequente determinação do elemento (DE ANDRADE et al., 2017; JIANG, WEN e XIANG, 2010). Dessa forma, devido às características desse tipo de matriz foi realizada a otimização das condições do programa de aquecimento do forno de grafite. Temperaturas de pirólise e atomização adequadas são necessárias para garantir a eliminação eficiente do material orgânico (surfactante e álcool) da amostra e também permitir a completa atomização, sem perda do analito. Para o estudo não foi utilizado modificador químico, devido à composição da matriz da fase rica em surfactante contendo o Sb, obtida por EPN. Isso porque a composição dessa matriz é mais complexa, com presença de vários compostos (complexante, surfactante, metanol e ácido) que podem auxiliar na estabilização do elemento para a quantificação por GF AAS. Assim, a otimização foi conduzida a partir da realização de experimentos univariados com a temperatura de pirólise avaliada na faixa de 600 a 1000 °C e temperatura de atomização na faixa de 1700 e 2100 °C. Os resultados obtidos nestes estudos estão mostrados na Figura 3.9. Nessa figura, que mostra a relação entre a absorbância e a temperatura, cada ponto representa o sinal de absorbância médio para três réplicas.

Figura 3.9. Resultados obtidos na otimização das etapas de pirólise e atomização do programa de aquecimento do forno de grafite para Sb usando GF AAS. (—■—) sinal atômico e (—■—) sinal de fundo - background (BG) obtidos para uma solução contendo reagentes em condições similares ao ponto nuvem



Fonte: A autora

A Figura 3.9 mostra os resultados de sinais analíticos de Sb (absorbância) obtidos para os ensaios de otimização das temperaturas de pirólise e atomização para uma solução simulando as condições obtidas no ponto nuvem. Para a curva de pirólise, observa-se que o sinal atômico se manteve estável na faixa entre 600 a 800 °C, com pequeno aumento de absorbância em 900 °C, devido provavelmente a eliminação da matéria orgânica nessa temperatura. O sinal de absorção de fundo (background) apresentou um comportamento diferenciado para as temperaturas avaliadas, sendo os menores valores de BG para as temperaturas de 600 e 800 °C. Para quantificação de uma analito é necessário que se utilize maiores temperaturas de pirólise para eliminação completa da matriz sem perda do analito. Enquanto que para temperatura de atomização, é necessário a obtenção de menor temperatura que permita uma quantificação adequada do analito, visando ainda garantir uma maior vida útil do tubo de grafite (FROES, WINDMÖLLER, e DA SILVA, 2006). Assim nota-se para o máximo de absorbância (900 °C), um aumento do sinal de fundo. Entre as temperaturas de 600 e 800 °C que obtiveram resultados similares, a temperatura de 800 °C, maior temperatura, foi escolhida como temperatura de pirólise ótima para determinação de Sb após EPN, pois permitiu a eliminação completa da matéria orgânica sem perda do analito. Nessa condição escolhida, o baixo valor do sinal de BG indicou a eliminação completa da matriz orgânica e ausência de resíduos no atomizador. A utilização de temperaturas de pirólise abaixo de 600 °C é adequada para eliminação da matriz orgânica em procedimento de EPN (HAGAROVÁ et al., 2008). A estabilidade do sinal atômico durante a pirólise pode estar relacionada com a presença do surfactante que pode agir como um modificador de matriz diminuindo a perda do analito.

A Figura 3.9, mostra ainda o efeito da temperatura de atomização no sinal analítico de Sb. É possível observar para a curva de atomização, que o sinal analítico é crescente com o aumento de temperatura. Isso ocorre, devido uma atomização adequada do analito, sem perda do sinal. Observa-se que um máximo de sinal atômico foi obtido com 2100 °C. No entanto, nesta temperatura foi também obtido o maior valor de BG, indicando que possivelmente resíduo carbonáceo, provindo da matéria orgânica da fase rica, pode ter acumulado no tubo de grafite, ocasionando a presença de maiores valores de BG, e por consequência, interferência na determinação de Sb. Assim, 2000 °C foi selecionada como temperatura de atomização para determinação de Sb. Isso porque, nesta temperatura houve uma atomização adequada, sem perda do analito e obtenção de baixo valor de BG, indicando eliminação completa da matéria orgânica.

Portanto, as condições obtidas nesse estudo foram consistentes com as condições descritas na literatura. Jiang, Wen e Xiang (2010) desenvolveram um método de extração por ponto nuvem para especiação de Sb(III) e Sb(V) utilizando GF AAS com técnica de quantificação e uso de tubo de grafite com aquecimento transversal. Neste trabalho as condições utilizadas no aquecimento do forno de grafite foram 400 °C e 2200 °C nas etapas de pirólise e atomização, respectivamente. Hagavorá et al. (2008) aplicou o EPN para especiação de Sb em água natural utilizando o APDC como complexante. Os autores avaliaram as condições do programa de aquecimento do forno de grafite e verificaram a perda de Sb com temperatura de pirólise de 900 °C e a temperatura adequada foi de 1800 °C.

No presente trabalho, as condições do programa de aquecimento do forno de grafite foram otimizadas e empregadas nos estudos seguintes para a determinação de Sb por GF AAS e estão apresentadas na Tabela 3.4.

Tabela 3.4. Programa de aquecimento do forno de grafite otimizado para determinação de Sb por GF AAS

Etapa	T (°C)	Tempo (s)		Fluxo do gás (L min ⁻¹)	Leitura
		Rampa	Patamar		
Secagem 1	85	5	2	0,3	Não
Secagem 2	95	40	1	0,3	Não
Secagem 3	120	10	1	0,3	Não
Pirólise	800	9	6	0,3	Não
Atomização	2000	2,7	4	0,0	Sim
Limpeza	2000	2	1	0,3	Não

Fonte: A autora

3.3.2 Estudo do Surfactante Utilizado na Extração de Sb por PN

Com o objetivo de avaliar um surfactante apropriado para a extração de Sb por EPN, foram testados dois surfactantes não-iônicos, o Triton X-100 e X-114 (PALEOLOGOS, GIOKAS e KARAYANNIS, 2005; PATIL e PATIL, 2010; PYTLAKOWSKA, KOZIK e DABIOCH, 2013). Esses dois surfactantes foram escolhidos porque são comumente utilizados nas técnicas de EPN, devido suas baixas temperaturas na formação de ponto nuvem e viabilidade comercial. Os surfactantes da classe dos tritons, permitem formar micelas com a parte interior hidrofóbica e a parte exterior hidrofílica, se ligando a moléculas de água. Isso permite essas micelas apresentarem capacidade de solubilização de diversos analitos de características e natureza diferentes, por interação eletrostática, hidrofóbica, ou combinação de ambas (CARABIAS-MARTÍNEZ et al., 2000; QUINA e HINZE, 1999). Além disso, esses surfactantes não apresentam toxicidade, apresentam baixo custo e a disposição dos resíduos finais é facilitada devido a possibilidade de incineração (SUSSULINI e ARRUDA, 2006). Os resultados obtidos para extração e pré-concentração de Sb usando esses dois surfactantes estão mostrados na Tabela 3.5 para uma amostra contendo $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) e $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(V) em pH 2,0.

Tabela 3.5. Estudo do tipo de surfactante na formação do ponto nuvem na análise de especiação de Sb e determinação por GF AAS

Surfactante	Temperatura do Ponto Nuvem (°C)	Sb(Total) $\mu\text{g L}^{-1}$	Sb(III) $\mu\text{g L}^{-1}$	Sb(V)* $\mu\text{g L}^{-1}$
Triton X-100	80	$2,3 \pm 0,18$	$1,3 \pm 0,16$	1,02
Triton X-114	50	$27,0 \pm 0,69$	$13,8 \pm 0,33$	13,3

*Sb(V) foi obtido pela diferença entre Sb(total) e Sb(III)

Fonte: A autora

De um modo em geral, nota-se uma maior dificuldade em obter o ponto nuvem com o uso do Triton X-100 como surfactante, devido a necessidade de uma maior temperatura para formação do ponto nuvem, como mostrado na Tabela 3.5. Segundo a literatura, a temperatura do PN depende da estrutura e concentração do surfactante e compostos químicos que estão presentes. Como citado anteriormente, a utilização de uma temperatura maior para Triton X-100 está relacionada ao fato que o mesmo apresenta uma cadeia com maior número de grupos de óxido de etileno $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ ($n=9-10$), conforme indicado na Figura 3.5. A presença de uma cadeia maior, aumenta a solubilidade do surfactante em solução, devido as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e os grupos de óxido de etileno do surfactante e assim, uma maior temperatura é necessária para a formação do PN (MUKHERJEE et al., 2011).

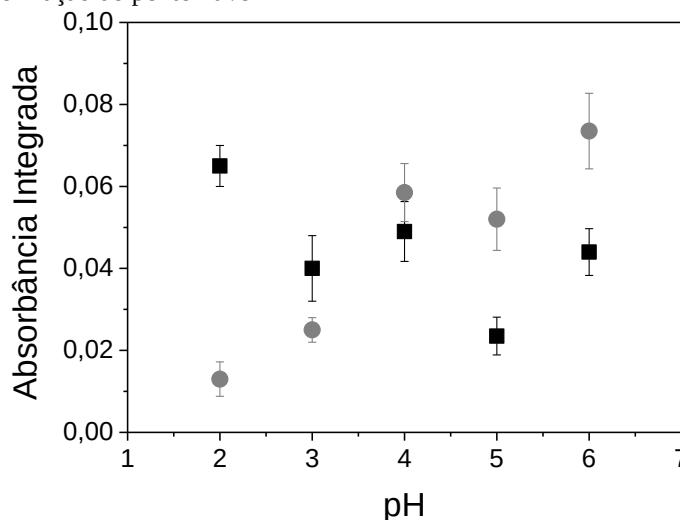
Conforme dados de concentração de Sb obtido para os dois pontos nuvem, observa-se que o Triton X-114 atuou de forma mais eficiente na formação do ponto nuvem e extração e pré-concentração mais adequada com determinação de maiores valores de Sb, em comparação com o Triton X-100. Os menores resultados obtidos para os teores de Sb utilizando Triton X-100 na formação do PN ressaltam o fato de que a utilização de uma temperatura muito elevada pode diminuir a eficiência do PN. Isso ocorre devido à dificuldade de obtenção do PN e consequente separação de fases, visto que a temperatura para formação do PN é mais elevada, sendo difícil manter a temperatura durante a centrifugação, o que pode diminuir o PN e assim a eficiência de extração (AKBAS e BATIGOC, 2009; PYTLAKOWSKA, KOZIK e DABIOCH, 2013). Além disso, o Triton X-114 apresenta uma temperatura de ponto nuvem relativamente baixa e uma alta densidade da fase rica em surfactante. Isso facilita a separação de fases por centrifugação, bem como pela ausência de grupos eletroativos em sua molécula (SUSSULINI e ARRUDA, 2006).

Além do mais, é possível verificar ainda pela aplicação de um teste-*t* aos resultados de concentração de Sb obtidos na Tabela 3.5 que as concentrações de Sb determinadas também foram significativamente diferentes, com $t_{observado}$ (59,99) maior que o $t_{crítico}$ (4,303). As recuperações relacionadas as concentrações determinadas através da técnica por ponto nuvem com a utilização de Triton X-114 foram 92,0% para Sb(III) e 89,0% para Sb(V). Com o uso do Triton X-100 as recuperações foram 8,7% para Sb(III) e 6,8% para Sb(V). Assim, o uso do Triton X-114 e temperatura de 50 ± 2 °C foram as condições escolhidas para formação do ponto nuvem e extração e pré-concentração de Sb.

3.3.3 Influência do pH na Extração de Sb por Ponto Nuvem

Para a proposta de análise de especiação, é necessário que a complexação de Sb seja seletiva para formação de ponto nuvem. Assim, é esperado que o Sb(III) seja a espécie que pode interagir com os pares de elétrons livres do ligante aniônico APDC, em condição de pH ácido (JIANG, WEN e XIANG, 2010). Porém, devido a influência do pH na forma que o Sb(III) e Sb(V) se encontram em solução e também na estrutura do agente complexante, foi realizado um estudo da influência do pH na complexação de diferentes formas de Sb em pH variando entre 2,0 e 6,0. As intensidades de sinais de absorbância de Sb(III) e Sb(V) determinadas para a fase rica por GF AAS, em função do pH do meio são mostradas na Figura 3.10.

Figura 3.10. Influência do pH na complexação de $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) (■) e de $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(V) (●) por APDC e formação do ponto nuvem



Fonte: A autora

A Figura 3.10 mostra a relação observada entre o sinal de absorbância obtida na determinação de Sb por GF AAS e o pH da solução utilizada na extração por ponto nuvem. É possível observar que Sb(III) foi detectado em toda faixa de pH avaliada, contudo na faixa de pH de 2,0 a 4,0 a intensidade de absorbância foi superior. Para o Sb(V), nota-se sinal analítico detectado na faixa de pH 3,0 a 6,0, mesmo sem a etapa de redução a Sb(III). Dessa forma, pode-se afirmar que em pH 2,0 não foi observado extração de Sb(V). Assim, visto que Sb(V) não forma um complexo com APDC, em presença de Triton X-114 em pH 2, este pH foi escolhido para complexação e extração seletiva de Sb(III) e Sb(V). A recuperação obtida para Sb(III) foi de $100 \pm 2,1\%$. A redução de Sb(V) para Sb(III) é necessária para determinação de Sb(total) após extração por PN.

Os resultados obtidos neste trabalho foram diferentes dos resultados reportados na literatura. Segundo alguns autores, em valores de pH maior que 4,0, o Sb(V) não forma complexo com APDC e assim, esta espécie não é extraída na fase rica em surfactante. Dessa forma, a extração seletiva de Sb(III) ocorre na faixa de pH 5,0-5,5 (HAGAROVÁ et al., 2008; JIANG, WEN e XIANG, 2010; LI et al., 2006). No entanto, Subramanian and Meranger (1981) realizaram a determinação de As(III), As(V), Sb(III), Sb(V), Se(IV) e Se(VI) por ET AAS, após complexação destas espécies com APDC e extração em meio de metil isobutil cetona. Os autores estudaram a relação entre o pH das soluções iniciais antes do aumento do pH e a porcentagem de extração dos elementos. Assim, foi observado que a espécie de Sb(III) foi completamente transferida da solução aquosa para a fase orgânica em uma faixa de pH de 1,0 a 5,5. Enquanto que a espécie de Sb(V) não foi extraída em pH de 2,5 a 10,0, sendo o Sb(V)

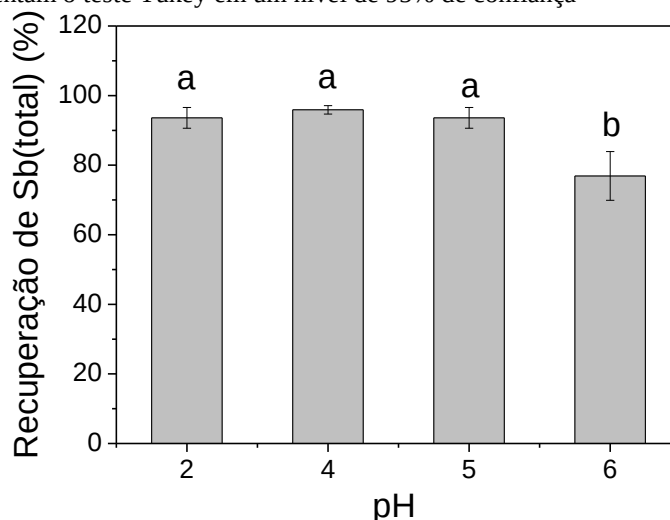
extraído somente com HCl na faixa de 0,3 a 1,0 mol L⁻¹. Iwamoto et al. (1986) estudaram a influência do procedimento de preparação das soluções de amostras de Sb para diferenciação de Sb(III) e Sb(V) por extração utilizando APDC. Os autores verificaram que a extração de Sb(III) apresentava interferência pela presença de Sb(V) em condição de mistura das soluções de ambas as espécies, principalmente a acidez da solução. Dessa forma, os autores concluíram que para evitar a extração de Sb(V) o pH das soluções das amostras deve ser maior que 3,0 quando ocorre a adição de APDC.

Assim, o princípio de ácidos e bases duros e moles de Pearson e as espécies de Sb dependentes do pH podem ajudar a explicar os resultados obtidos. De acordo com a literatura, em valores de pH baixos, o Sb(V) é predominante como $[\text{Sb}(\text{OH})_6]^-$, e em condições muito ácidas o Sb(V) pode estar presente como SbO_2^+ , enquanto que Sb(III) encontra-se presente como $\text{Sb}(\text{OH})_3$ ou $\text{SbO}(\text{OH})$ na faixa de pH de 2,0 a 10,0 (FILELLA, BELZILE e CHEN, 2002a). Essas diferenças podem influenciar ou não a complexação das espécies pelo APDC.

Na forma de ditiocarbamato existe um par de elétrons isolados localizados no nitrogênio (sp^3), sugerindo que esta forma é um ligante doador mole, capaz de fazer ligação com átomos de metal de baixa valência. A forma da *thioureide* é planar (sp^2) com par de elétrons isolado localizado na ligação carbono-nitrogênio e nos átomos de enxofre. Consequentemente, este tautômero é um ligante doador duro, favorecendo a ligação com elementos de alta valência (HOGARTH, 2012). Sb(V) é um ácido duro, e a sua complexação deveria ser favorecida com a forma *thioureide*, enquanto Sb(III) é classificado como um elemento intermediário, formando complexos com ambas as formas ressonantes (ditiocarbamato e *thioureide*). No entanto, a complexação do Sb com o APDC pode ser influenciada pela sua estabilidade hidrolítica. Em valores de pH abaixo de 2,0, o APDC é protonado e decomposto para uma amina e dissulfeto de carbono. Este grau de decomposição do ligante pode reduzir a capacidade de complexação de Sb(V) devido a ausência da forma ressonante *thioureide* dura (HOGARTH, 2012; SUBRAMANIAN e MERANGER, 1981). Dessa forma, possivelmente o Sb(III) foi mais facilmente complexado pelo APDC, sendo possível a extração seletiva desta espécie, pela formação do complexo Sb(III)-APDC, em pH 2.

Além do estudo do pH para extração seletiva de Sb(III) foi avaliado ainda o pH mais adequado para extração e quantificação de Sb(total) com uma solução inicial contendo a mistura das duas espécies (Sb(V) e Sb(III)) e realizado inicialmente a redução de Sb(V) para Sb(III) usando L-cisteína 1,0% (m/v) como agente redutor. Os resultados para a recuperação de Sb(total) em diferentes valores de pH e o teste Tukey em um nível de 95% de confiança estão mostrados na Figura 3.11.

Figura 3.11. Avaliação do pH adequado para extração por ponto nuvem e quantificação do Sb(total). As letras a e b representam o teste Tukey em um nível de 95% de confiança



Fonte: A autora

A Figura 3.11 mostra a porcentagem de recuperação do Sb(total), que representa o somatório do Sb(III) e Sb(V), obtida após formação do ponto nuvem com diferentes valores do pH do meio. Recuperação inadequada (77 ± 7) foi obtida para pH 6,0. Especificadamente, nota-se que, para a faixa de pH 2 a 5, foram obtidas recuperações de 94 a 96 % para Sb(total), sem diferença significativa, fato este observado pela aplicação de um teste Tukey em um nível de 95% de confiança. Foi escolhido o pH 4 como a condição adequada para a formação do PN e quantificação do Sb(total), pois é uma condição intermediária e com menor estimativa de desvio padrão.

3.3.4 Efeito da Concentração do Surfactante e do Complexante na Formação do PN para Determinação de Sb por GF AAS

Após definir o tipo de surfactante, o pH do meio e das condições de análise por GF AAS, foi otimizada a concentração do agente complexante e surfactante para o presente estudo, através de uma abordagem multifatorial. Outros estudos também poderiam ser realizados com uso desse tipo de ferramenta, porém para compreender a complexação das espécies de Sb pelo agente quelante (APDC) e comprovar a extração seletiva, a influência do pH foi avaliada por um estudo univariado. Com aplicação de um planejamento fatorial, uma diminuição do número de experimentos foi possível, assim como um menor gasto de reagentes e menor geração de resíduos. Além disso, esse estudo também possibilitou a avaliação do efeito de interação entre esses fatores. Assim, um planejamento fatorial 2^2 com ponto central foi empregado na

determinação das melhores concentrações de surfactante e complexante para extração de Sb(III) ($15,0 \mu\text{g L}^{-1}$) por EPN, em dois níveis. O ponto central foi realizado em triplicata. As condições, fatores e os resultados para este estudo estão mostrados na Tabela 3.6.

Tabela 3.6. Condições de análise e resultado do planejamento fatorial 2^2 com ponto central para avaliação do surfactante e agente complexante na formação do PN para especiação de Sb(III)

Fatores	Nível (-)	Nível (+)	Ponto central (0)
A-Triton X-114 (%) (v/v)	0,10	0,30	0,20
B-APDC (%) (m/v)	0,075	0,175	0,125
Experimento	Fator A	Fator B	Concentração de Sb(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	-	-	6,6
2	+	-	10,9
3	-	+	9,2
4	+	+	15,2
5	0	0	$10,7 \pm 0,99^*$
Efeitos	Estimativas $\pm$ Erro Padrão		t _{observado}
Média global	$10,5 \pm 0,50$		21,16
Efeitos principais			
Triton X-114	$5,1 \pm 0,99$		5,19
APDC	$3,5 \pm 0,99$		3,48
Efeitos de interação			
APDC x Triton X-114	$0,8 \pm 0,99$		0,81

*Desvio padrão do ponto central (n=3)

Fonte: A autora

Os resultados apresentados na Tabela 3.6 indicaram que a concentração de Sb(III) foi influenciada pelos fatores estudados. As concentrações adequadas de surfactante e complexante para extração de Sb por ponto nuvem foram observadas na condição 4, em que foi obtida um teor de $15,2 \mu\text{g L}^{-1}$ com recuperação de Sb(III) de 101,0 %. Enquanto que a condição de menor concentração de APDC e menor teor de surfactante no meio resultou em uma menor concentração do analito.

A Tabela 3.6 apresenta ainda os efeitos global, principal e de interação para os fatores avaliados (APDC e Triton X-114). Como é possível observar a média global dos efeitos foi de $10,5 \pm 0,50$. Os valores para os efeitos principais do Triton X-114 e APDC, e o efeito de interação foram $5,1 \pm 0,99$, $3,5 \pm 0,99$ e $0,8 \pm 0,99$, respectivamente. Para verificar a significância desses efeitos em um nível de 95% de confiança, levou-se em consideração a equação 3.2 (BARROS NETO, SCARMÍNIO e BRUNS, 2007):

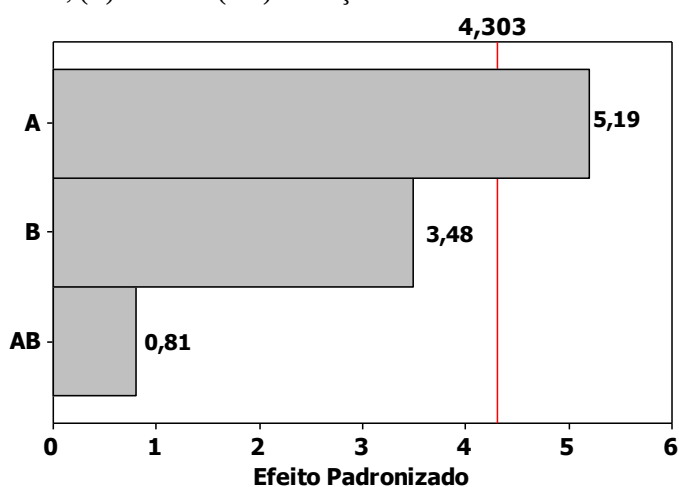
$$t_2 \times s(\text{efeito}) = 4,303 \times 0,99 = 4,26 \quad (3.2)$$

Na equação 3.2, t_2 é o valor de $t_{\text{crítico}}$ para os fatores e $s(\text{efeito})$ é o desvio padrão para os efeitos.

Assim, para verificar se os efeitos obtidos são significativos, os mesmos devem apresentar valores acima de 4,26. Dessa forma, o resultado dos efeitos (Tabela 3.6) mostraram

que o efeito global ($10,5 \pm 0,50$) e o efeito principal da porcentagem do surfactante ($5,14 \pm 0,99$) foram significativos. A concentração do APDC não apresentou efeito significativo na formação do PN. O efeito de interação foi $0,80 \pm 0,99$ e não foi significativo no nível de 95% de confiança. A não significância do efeito de interação pode estar relacionada com a escolha dos níveis, ao fato da região experimental ser muito pequenada, ou devido ao ponto central não ser uma condição boa. Esses resultados podem ser observados ainda no gráfico de Pareto, apresentado na Figura 3.12.

Figura 3.12. Gráfico de Pareto obtido para o planejamento Fatorial 2^2 com ponto central, com os valores de t para (A) Triton X-114, (B) APDC e (AB) interação de Triton X-114*APDC.



Fonte: A autora

O gráfico de Pareto (Figura 3.12) mostra os valores de t para os fatores Triton X-114 e APDC e para interação desses fatores, valores estes obtidos de acordo com a equação 3.3 (RODRIGUES e IEMMA, 2014).

$$t_{calc} = \text{Efeito} / EP_{\text{Efeito}} \quad (3.3)$$

Na equação 3.3, t_{calc} é o valor de $t_{\text{calculado}}$ e EP_{Efeito} é o erro padrão do efeito.

Os valores de efeitos e erro padrão dos efeitos e os valores de t_{cal} são mostrados na Tabela 6. Se o efeito de interação não for significativo é possível interpretar cada efeito principal isoladamente (RODRIGUES e IEMMA, 2014). Como observa-se no gráfico de Pareto (Figura 3.12), somente o Triton X-114 foi significativo no nível de 95% de confiança. Diante disso, uma maior concentração de Triton X-114 em solução causa um efeito positivo na formação do PN, sendo a condição 4, em que se utiliza maior concentração de Triton X-114 e APDC, escolhida para os estudos.

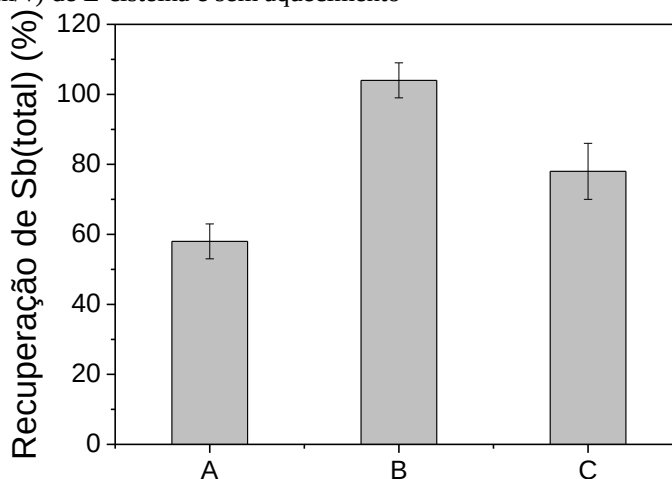
Como mostrado na Tabela 3.6, a mudança na concentração de Triton X-114 promove um aumento de $5,1 \mu\text{g L}^{-1}$ na concentração de Sb(III) independentemente da concentração de

APDC avaliada. Segundo relatos da literatura, a formação do ponto nuvem utilizando Triton X-114 aumenta quando ocorre um aumento da concentração deste surfactante em meio aquoso (PATIL e PATIL, 2010). Isso ocorre, devido a desidratação dos grupos de óxido de etileno do surfactante, os quais necessitam de alta temperatura para remover as moléculas de água associada, resultando na separação de fase, conhecida como nuvem (PATIL e PATIL, 2010). Este comportamento é desejável pois aumenta a eficiência na extração do analito de interesse da matriz a ser estudada.

3.3.5 Estudo do Processo de Redução Química de Sb(V) para Sb(III) para Quantificação do Teor Total de Sb através da Extração por PN e GF AAS

Neste estudo a etapa de redução de Sb(V) para Sb(III) foi avaliada visando encontrar uma melhor condição para determinação do Sb(total). Segundo estudos relatados na literatura, a L-cisteína é utilizada para redução de Sb(V) em Sb(III) apresentando resultados satisfatórios (JIANG, WEN e XIANG, 2010). Além disso, a redução da espécie de interesse utilizando L-cisteína é mais rápida e pode ser realizada em condições menos ácidas (FAN, 2005; HERMELO, 2007). Os resultados para o estudo de otimização do processo de redução química de Sb(V) para Sb(III) com L-cisteína estão mostrados na Figura 3.13.

Figura 3.13. Resultados dos testes realizados na avaliação da redução $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(V) para Sb(III) com diferentes condições experimentais e posterior extração por ponto nuvem e GF AAS. A) 0,5% (m/v) de L-cisteína e aquecimento por 15 min., B) 1,0% (m/v) de L-cisteína e aquecimento por 15 min. e C) 1,0% (m/v) de L-cisteína e sem aquecimento



Fonte: A autora

Com pode ser observado na Figura 3.13, a utilização de menor quantidade de L-cisteína foi inadequada (recuperação de 78,0 %) e o uso de maior concentração de L-cisteína necessita de aquecimento para uma recuperação de Sb(total) adequada (104,0 %).

Assim, a melhor condição apresentada para a redução química de Sb(V) em Sb(III) foi a condição em que se utilizou L-cisteína 1,0% e aquecimento por 15 min. Os resultados mostraram que nesta condição a determinação do Sb(total) foi eficiente, sendo que a recuperação foi próxima de 100% e apresentou o menor desvio padrão. Diante desses resultados, essa condição foi adotada para especiação de Sb. Outros estudos reportados na literatura relatam o processo de redução química de Sb(V) para Sb(III) empregando L-cisteína na faixa de 0,5 a 1,0 % com tempo de aquecimento entre 20 e 25 min e 1,0 % de L-cisteína por 5 a 20 min sem etapa de aquecimento (FAN, 2005; JIANG, WEN e XIANG, 2010; SOUZA e TARLEY, 2008). Assim, a utilização da L-cisteína como agente redutor em procedimentos de extração por PN torna-se uma vantagem devido a sua capacidade de redução mais rápida (HERMELO, 2007).

Com os estudos de otimização do método de EPN realizados foi possível estabelecer uma condição adequada para especiação de Sb. Assim, com a condição de EPN pré-definida foi realizado um estudo de validação por meio de parâmetros, tais como, seletividade, linearidade, LOD e LOQ, precisão e exatidão, de modo a garantir a confiabilidade do método otimizado para aplicação em amostras reais.

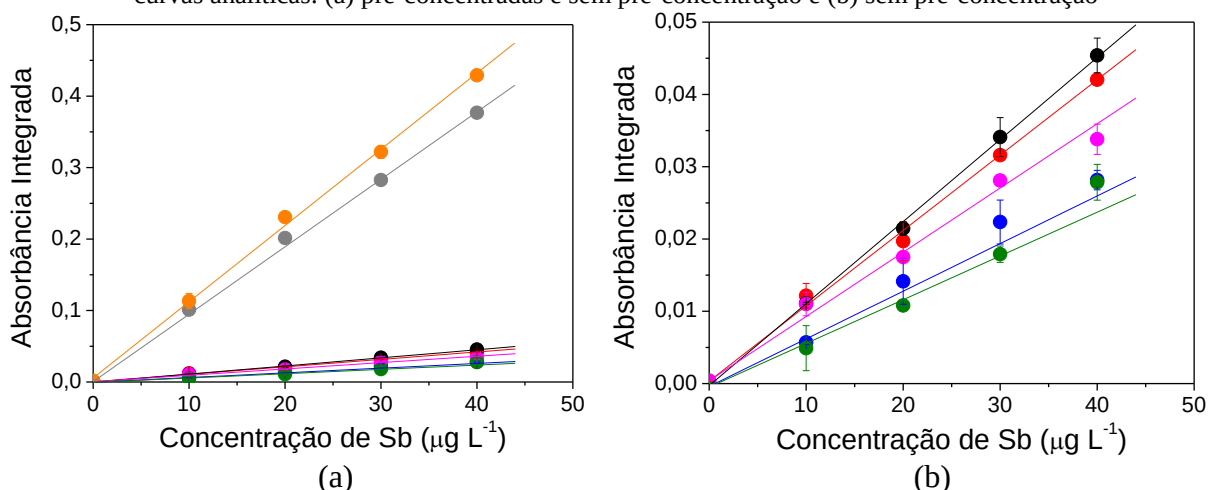
3.3.6 Avaliação de Parâmetros de Mérito do Procedimento utilizado na Especiação de Sb

3.3.6.1 Calibração, linearidade e fator de enriquecimento (FE)

A forma de calibração escolhida foi por padronização externa. Diferentes curvas analíticas foram preparadas com soluções aquosas contendo Sb submetidas ao procedimento de EPN e não submetidas a este procedimento. As condições de preparo das curvas analíticas estão descritas na Tabela 3.3. A realização desse estudo permitiu verificar a influência da matriz na determinação de Sb após extração por PN, bem como obter um sinal analítico adequado e maior sensibilidade. Este estudo foi realizado ainda para avaliar a melhor condição para diluição das amostras após formação do PN (minimizando o efeito de matriz). Assim, os eluentes tais como HNO₃, metanol e etanol foram utilizados para diminuir a viscosidade da fase orgânica obtida após o procedimento de EPN. Esse estudo é importante para verificar a possibilidade de obtenção de um método de calibração adequado para quantificação de Sb nas amostras a serem analisadas após a aplicação do método de EPN sem a necessidade de realizar a pré-concentração

da curva analítica. Assim, a obtenção de um método de calibração sem a necessidade de realizar pré-concentração da curva analítica, aumenta a frequência analítica do método, diminui o uso de reagentes e por consequência, diminui o custo de análise. As curvas analíticas obtidas em cada meio são mostradas na Figura 3.14 e as equações com os resultados da calibração são apresentados na Tabela 3.7.

Figura 3.14. Estudo da influência da matriz na determinação de Sb após EPN, por meio da avaliação de diferentes curvas analíticas: (a) pré-concentradas e sem pré-concentração e (b) sem pré-concentração



Fonte: A autora

Legenda: (—●—) Curva 1: Solução padrão aquosa de Sb(III) submetida ao procedimento de EPN; (—○—) Curva 2: Solução padrão aquosa de Sb(V) submetida ao procedimento de EPN após a redução de Sb(V) para Sb(III); (—●—) Curva 3: Solução padrão de Sb(III) com 0,2 mol L⁻¹ de HNO₃ sem procedimento de EPN; (—●—) Curva 4: Igual curva 3 com adição de Triton X-114 (0,01%, v/v); (—●—) Curva 5: Igual curva 3 com adição de Triton X-114 (0,01%, v/v) e Metanol (10,0 %, v/v); (—●—) Curva 6: Igual curva 3 com adição de Triton X-114 (0,01%, v/v) e Metanol (1,0 %, v/v); (—●—) Curva 7: Igual curva 3 com adição de Triton X-114 (0,01%, v/v) e Etanol (10,0 %, v/v)

Tabela 3.7. Equações das curvas analíticas para determinação de Sb e os erros dos coeficientes obtidos

Curva ^a	Equação da curva analítica	r ^b	R ² (%) ^c
1	$Abs = 159,00 \times 10^{-4} (\pm 3,00 \times 10^{-4}) + 139,00 \times 10^{-4} (\pm 5,00 \times 10^{-4}) * C_{Sb}$	0,9991	99,8
2	$Abs = 77,00 \times 10^{-4} (\pm 4,00 \times 10^{-4}) + 157,00 \times 10^{-4} (\pm 1,00 \times 10^{-4}) * C_{Sb}$	0,9992	99,8
3	$Abs = -30,00 \times 10^{-4} (\pm 10,00 \times 10^{-4}) + 8,10 \times 10^{-4} (\pm 0,40 \times 10^{-4}) * C_{Sb}$	0,9967	99,4
4	$Abs = 6,00 \times 10^{-4} (\pm 8,00 \times 10^{-4}) + 11,30 \times 10^{-4} (\pm 0,40 \times 10^{-4}) * C_{Sb}$	0,9977	99,5
5	$Abs = -15,00 \times 10^{-4} (\pm 2,00 \times 10^{-4}) + 13,10 \times 10^{-4} (\pm 6,00 \times 10^{-4}) * C_{Sb}$	0,9999	99,9
6	$Abs = 10,00 \times 10^{-4} (\pm 10,00 \times 10^{-4}) + 8,40 \times 10^{-4} (\pm 0,50 \times 10^{-4}) * C_{Sb}$	0,9992	99,8
7	$Abs = -50,00 \times 10^{-4} (\pm 10,00 \times 10^{-4}) + 8,00 \times 10^{-4} (\pm 0,50 \times 10^{-4}) * C_{Sb}$	0,9968	99,4

^aIdentificação da curva analítica; ^bcoeficiente de correlação; ^ccoeficiente de determinação.

Fonte: A autora

A Figura 3.14 mostra que as curvas analíticas construídas em diferentes condições apresentaram inclinações distintas, o que pode ser melhor observado pelos coeficientes angulares das equações de reta das curvas apresentadas na Tabela 3.7. A comparação entre as curvas e os valores de coeficientes angulares obtidos para as soluções submetidas pelo

procedimento de EPN e soluções não submetidas a este procedimento, mostrou a capacidade de pré-concentração do método de EPN implantado no presente estudo. Assim, é observado que as curvas pré-concentradas de Sb apresentaram coeficientes angulares maiores, e consequentemente maior sensibilidade. A curva construída após etapa de oxidação com KMnO_4 apresentou a maior inclinação (slope). No entanto, a preparação de cada concentração usada para construir as curvas pré-concentradas por ponto nuvem requer maior tempo de análise e consumo de reagentes. Diante disso, a forma de calibração escolhida foi sem pré-concentração, pelo uso de soluções padrão de Sb simulando as condições de preparo do PN. Como mostra a Tabela 3.7, as curvas sem pré-concentração apresentaram diferentes sensibilidades, fato este observado pelos valores de coeficiente angular diferentemente significativos (Teste F), sugerindo um efeito de matriz em relação ao ponto nuvem. As curvas 5, 6 e 7 apresentam adição de reagentes que simulam a composição da fase orgânica obtida após procedimento de PN e se diferenciam pela adição de diferentes eluentes (metanol ou etanol) visando diminuir a viscosidade da solução contendo surfactante. A curva 5 apresentou o maior coeficiente angular (0,00131) e por assim maior sensibilidade para a determinação de Sb por GF AAS, apresentando ainda uma composição mais semelhante à curva pré-concentrada obtida pelo método de ponto nuvem. Dessa forma o método de calibração contendo solução padrão de Sb(III), HNO_3 0,2 mol L^{-1} , Triton X-114 (0,01 %) e metanol (10,0 %, v/v) foi escolhido para o estudo.

Após verificar e definir a melhor condição de método de calibração a ser utilizada para determinação de Sb, um estudo de linearidade da curva foi realizado, o qual permite determinar a faixa na qual o sinal analítico é linearmente proporcional à concentração do analito de interesse (RIBEIRO et al., 2008). A Tabela 3.8, mostra os resultados para a ANOVA a um nível de 95% de confiança, com análise de regressão linear e teste de falta de ajuste obtidos no estudo de linearidade.

Tabela 3.8. Resultados da análise de regressão linear e teste de falta de ajuste em um nível de 95% de confiança para o estudo de linearidade da curva analítica para quantificação de Sb

<i>Curva</i>	<i>Parâmetros</i>			
	<i>Regressão^a</i>		<i>Teste de falta de ajuste^b</i>	
Curva analítica em meio de Triton X-114, metanol e ácido nítrico	<i>F_{regressão}</i>	<i>valor de p</i>	<i>F_{faj}</i>	<i>valor de p</i>
	475,15	0,000	0,17	0,919
	<i>Coefficientes da Regressão Linear ± Intervalo de confiança</i>		<i>t_{observado}^c</i>	<i>valor de p</i>
	Intercepto : -0,000480 ± 0,00119		0,40	0,689
	Inclinação: 0,00131 ± 0,00006		21,80	0,000

^a $F_{\text{critico}}(0,05; 1, 43) = 4,067$; ^b $F_{\text{critico}}(0,05; 3, 40) = 2,839$; ^c $t_{\text{critico}}(0,025, 43) = 2,021$

Fonte: A autora

Na avaliação da regressão (Tabela 3.8) da curva analítica para determinação de Sb observa-se que o $F_{regressão}$ (475,15) com valor de p 0,000 foi superior ao $F_{crítico}$ (4,067), indicando que a regressão linear é significativa em um nível de 95% de confiança. A adequabilidade do método linear foi avaliada pelo teste de falta de ajuste, em que foi possível verificar que o F_{faj} (0,17) com valor de p 0,919 foi menor que $F_{crítico}$ (2,839), indicando que o valor para o teste de falta de ajuste não foi significativo em um nível de 95% de confiança. Assim, os resultados mostraram que o modelo linear é adequado para estabelecer a relação entre a absorbância e a concentração de Sb, visto que a regressão linear foi significativa e não existe falta de ajuste no modelo. Além disso, a significância dos coeficientes de calibração (coeficiente angular e linear) foi avaliada pela aplicação de um teste-t. Os resultados mostraram que somente a inclinação foi significativa pois o valor de t_{obs} (21,80) foi maior que $t_{crítico}$ (2,021) para o coeficiente angular, enquanto que o coeficiente linear apresentou um valor de t_{obs} (0,40) menor que o valor de $t_{crítico}$ (2,021), não indicando significância. O coeficiente de correlação obtido ($r = 0,9987$) sugere que existe uma correlação linear entre a concentração e o sinal de absorbância obtido, o qual está dentro dos limites aceitáveis pela legislação ($r > 0,99$) (BRASIL, 2003).

Assim, o modelo de regressão linear escolhido foi adequado para quantificar Sb nas amostras, com linearidade adequada e confiabilidade. No entanto, para o uso deste método de calibração por padronização externa com solução padrão de Sb simulando os reagentes da fase rica em surfactante, é necessário conhecer o fator de enriquecimento (FE). Isso permite calcular a concentração de Sb presente na amostra obtida após aplicação do método de ponto nuvem. Assim, os fatores de enriquecimento para Sb(III) e Sb(total) utilizando as curvas pré-concentradas para Sb(III) (curvas 1 e 2) e a curva analítica sem pré-concentração (5) (Tabela 3.8) foram determinados. O FE foi determinado, pela razão entre o coeficiente angular da curva pré-concentrada e o coeficiente angular da curva sem pré-concentração, sendo obtidos os valores de $10,6 \pm 0,7$ e $12,0 \pm 0,6$ para Sb(III) e Sb(total), respectivamente. Trabalhos relatados na literatura indicam valores de FE de 5 a 45 vezes, usando extração com ponto nuvem, com técnicas de determinação diferentes (geração de hidretos com ICP OES e FAAS) (DEPOI e POZEBON, 2012; FAN, 2005). As diferenças observadas nos valores de FE para os estudos realizados, dependem das condições de formação do ponto nuvem (reagentes, temperatura, etc), bem como das técnicas utilizadas para determinação. Dessa forma, os valores de FE obtidos no presente trabalho foram adequados e permitiram a extração e pré-concentração de Sb por ponto nuvem, com determinação de baixas concentrações de Sb.

3.3.6.2 Limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ)

Os LOD e LOQ foram calculados e os valores obtidos foram $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,19 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Esses valores são adequados e mostram que é possível a quantificação de baixas concentrações de Sb por extração por ponto nuvem com detecção por GF AAS. Além disso, os valores de LOD e LOQ obtidos neste estudo foram similares aos valores encontrados na literatura, sendo a faixa de $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ a $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$ (HAGAROVÁ et al., 2008; JIANG, WEN e XIANG, 2010; SOUZA e TARLEY, 2008).

3.3.6.3 Precisão

Para verificar a confiabilidade do protocolo analítico para especiação de Sb foi realizado um estudo de precisão. Este estudo foi realizado pela estimativa de repetitividade e precisão intermediária. Os resultados foram expressos como desvios padrão relativos (RSD). A precisão intermediária foi também avaliada pelo valor Horrat (AOAC, 2012; GONZÁLEZ, HERRADOR e ASUERO, 2010). Os resultados para a precisão estão apresentados na Tabela 3.9.

Tabela 3.9. Resultados do estudo de precisão para Sb(III) e Sb(total) por EPN e GF AAS

Espécie	Repetitividade	Precisão Intermediária	Valor Horrat
	RSD (%)	RSD (%)	
Sb(III)	5,30	5,96	0,76
Sb(total)	3,77	2,14	0,69

Fonte: A autora

Como pode-se observar na Tabela 3.9, os valores de RSD calculados para o procedimento para Sb(III) foram 5,30% e 5,96% para repetitividade e precisão intermediária, respectivamente. Os valores de RSD para Sb(total) foram de 3,77% e 2,14% para repetitividade e precisão intermediária, respectivamente. Os valores de RSD (%) para repetitividade foram considerados apropriados, sendo que estes valores foram menores que os recomendados pela AOAC (2012) ($\text{RSD} (\%) < 11,0$). A precisão intermediária foi avaliada ainda pelo valor Horrat, sendo obtidos valores de 0,76 e 0,69 para Sb(III) e Sb(total), respectivamente. Os valores foram adequados, sendo que o limite aceitável para precisão de estudos intralaboratoriais devem ser menores que 1,3 (GONZÁLEZ, HERRADOR e ASUERO, 2010). Portanto, os resultados de precisão indicaram que a análise de especiação de Sb pelo método de EPN de detecção por GF AAS é preciso, apresentando baixa variabilidade nas análises realizadas no mesmo dia e em dias diferentes.

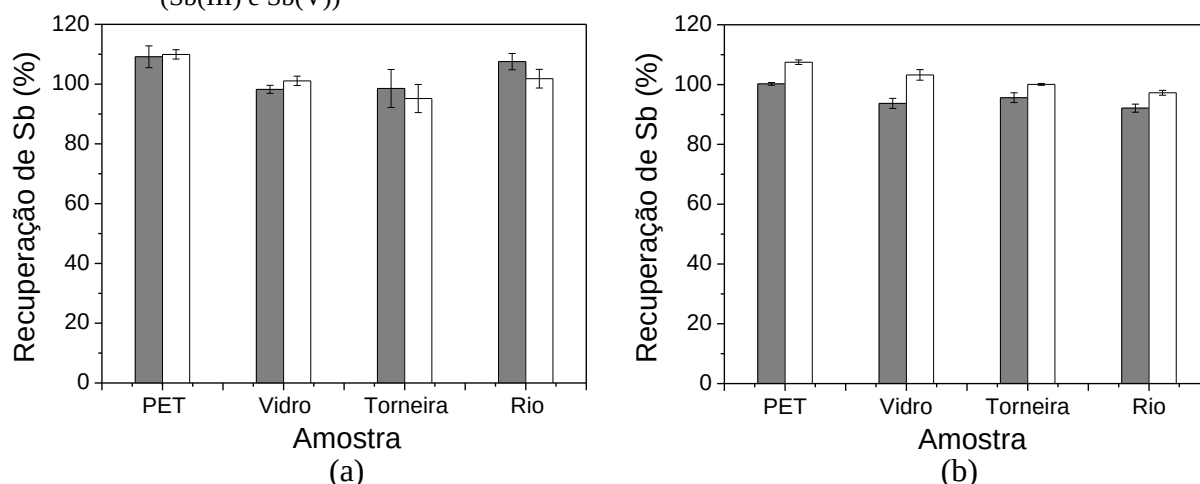
3.3.6.4 Estudo de interferência de íons

O potencial efeito de interferência de alguns elementos traço, tais como Cu^{2+} , Pb^{2+} e Cd^{2+} na formação do ponto nuvem para determinação de Sb foi avaliado, usando esses elementos como modelo. Esses elementos foram escolhidos porque são elementos utilizados na fabricação das embalagens PET, sendo adicionados às embalagens durante o processo de fabricação (etapa de pigmentação) ou estarem presentes na matriz alimentar (CADOORE, MATOSO e SANTOS, 2008; REIMANM, BIRKE e FILZMOSE, 2010). Além disso, estes elementos traço podem ser complexados pelo APDC, visto que ditiocarbamatos formam complexos com elementos de transição (HOGARTH, 2012; PYTLAKOWSKA, KOZIK e DABIOCH, 2013). A faixa de concentração avaliada foi escolhida considerando a faixa de concentração que possivelmente pode estar presente nas amostras estudadas. Este estudo foi realizado pela adição de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie na solução padrão de Sb(III) ($15,0 \mu\text{g L}^{-1}$). O resultado para recuperação de Sb(III) foi $94,1 \pm 3,2\%$, indicando que os elementos estudados não interferem significativamente no procedimento proposto no trabalho. No entanto, outros elementos que podem estar presentes na água mineral engarrafada ou água de rio podem interferir na extração de Sb. Dessa forma, a exatidão do método foi avaliada em amostras reais (água mineral engarrafada em PET e em vidro, água de torneira e água de rio) por um estudo de recuperação.

3.3.6.5 Exatidão

A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação em dois níveis de concentração ($2,0$ e $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$) de Sb(III) e Sb(total) em amostras de água mineral (envasada em embalagens PET e vidro), água de torneira e água de rio. Todas as amostras foram preparadas e analisadas em triplicata e os resultados são expressos como percentagem de recuperação conforme Figura 3.15.

Figura 3.15. Recuperação de (■) Sb(III) e (□) Sb(total) para amostras de água mineral envasada em PET e em vidro, água de torneira e água de rio, para dois níveis de concentração de Sb: (a) Solução contendo $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie (Sb(III) e Sb(V)) e (b) Solução contendo $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie (Sb(III) e Sb(V))



Fonte: A autora

A Figura 3.15 mostra os resultados obtidos para o estudo de exatidão para o procedimento analítico empregado na análise de especiação de Sb. Os valores de recuperação obtidos para Sb(total) variaram na faixa de $93,1 \pm 0,31$ a $110 \pm 1,57$ % para as amostras enriquecidas com $4,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb, respectivamente. Para Sb(III) os valores de recuperação variaram entre $92 \pm 1,35$ e $109 \pm 3,65$ % para os dois níveis de concentração avaliados.

Os valores de recuperação estão dentro dos limites aceitáveis (60-115 %) para a faixa de concentração avaliada (AOAC, 2012). Estes resultados sugerem que o método de EPN para extração e pré-concentração de Sb com detecção por GF AAS foi exato, permitindo a determinação deste elemento em água mineral, água de torneira e água de rio com confiabilidade.

Jiang, Wen e Xiang (2010) realizaram a especiação de Sb(III) e Sb(V) em soluções lixiviadas de materiais de embalagens de alimentos, por EPN e determinação por GF AAS, usando APDC como agente complexante, Triton X-114 como surfactante e L-cisteína como agente redutor. As amostras avaliadas foram fortificadas com diferentes quantidades de Sb(III) e Sb(V) antes da aplicação do EPN. As recuperações obtidas ficaram em uma faixa aceitável (91,0 - 118,0 %) (JIANG, WEN e XIANG, 2010).

Em outro estudo, Fan (2005) realizou a análise de especiação de Sb usando EPN e determinação por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS) em amostras de água de rio e águas residuais. Para EPN foi usado N-benzoil-N-fenilhidroxilamina (BPHA) como agente quelante, Triton X-114 como surfactante e L-cisteína como agente redutor. O

estudo de recuperação foi realizado em amostras reais e os valores obtidos foram na faixa de 95,3 a 106,0 % (FAN, 2005).

De forma geral, o estudo de validação *in house* mostrou que o método de EPN com detecção por GF AAS para especiação de Sb em as amostras de água foi exato, preciso e seletivo.

3.3.7 Avaliação da Especiação de Sb em Amostras Brasileiras de Água Mineral Envasadas em Embalagens PET e Estudos de Migração

3.3.7.1 Determinação da concentração total de Sb em embalagens PET

Vários trabalhos indicam a possível migração de Sb proveniente de embalagens PET para o alimento ou bebida acondicionados. Assim, em uma primeira etapa foi avaliada a presença de Sb nas embalagens PET utilizadas no envase de água mineral brasileira. Foram determinada as concentrações de Sb(total) no polímero de 14 embalagens de garrafa PET utilizadas neste estudo após digestão por micro-ondas (CHAPA-MARTÍNEZ et al., 2016; WESTERHOFF et al., 2008). As concentrações de Sb foram determinadas em amostras de diferentes volumes e colorações de três fabricantes (A, B e C). Essas amostras foram escolhidas devido a fácil aquisição na região e ainda por serem água mineral de marcas mais comuns de consumo pela população local.

Para garantir que não estava ocorrendo perda de Sb, e não haveria interferência na medida de Sb por absorção atômica pelo uso de ácidos durante o processo de digestão, primeiramente um estudo de recuperação de Sb foi realizado. Nesse ensaio, foi adicionado $100,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Sb na amostra antes da etapa de digestão, de modo a verificar a eficiência das condições adotadas para digestão do PET por micro-ondas. Nesse estudo foi obtida uma recuperação de $96 \pm 1,21\%$, sugerindo que a condição com adição de $\text{HNO}_3\text{:HCl}$ na proporção 4:1 foi eficiente para digestão da embalagem PET por micro-ondas. Assim, essa condição foi utilizada para determinar a concentração de Sb(total) em 14 amostras de embalagens PET de três fabricantes diferentes de água mineral, denominados de A, B e C.

As concentrações de Sb determinadas nas 14 amostras de garrafa PET avaliadas variaram de $310,47 \pm 0,05$ a $435,85 \pm 3,30 \text{ mg kg}^{-1}$. Um teste de Tukey foi realizado e mostrou que existem diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as concentrações de Sb encontradas nas amostras de garrafa PET digeridas. As concentrações médias de Sb determinadas em amostras de embalagem PET foram $419 \pm 25,38$; $400 \pm 15,71$ e; $321 \pm 6,17 \text{ mg kg}^{-1}$, para os fabricantes de água mineral A, B e C, respectivamente. Assim, é possível notar que as amostras dos

fabricantes A e B apresentaram as maiores concentrações médias de Sb, sendo suas concentrações próximas entre si. No entanto, as embalagens apresentam características distintas. As amostras do fabricante A consistem de embalagens mais rígidas, de coloração levemente azul e azul escuro. As embalagens das amostras de água do fabricante B, são maleáveis, consistindo de 30% do PET a base de planta e são incolores. Já as embalagens das amostras de água mineral do fabricante C, que apresentaram as menores concentrações de Sb, são embalagens rígidas, de diferentes colorações (azul claro translúcido, incolor, rosa e azul escuro).

Não foram encontradas na literatura legislações que apresentam limites para presença de Sb em embalagem PET. No entanto, segundo a recomendação da Alemanha, a concentração máxima permitida de Sb nas embalagens PET é de 350 mg kg^{-1} (BfR, 2011). Assim, as amostras dos fabricantes A e B, avaliadas neste estudo apresentaram concentrações de Sb acima do descrito pela BfR (2011). Estudos na literatura relatam a presença de concentrações de Sb em garrafa PET na faixa de 104 a $640,5 \text{ mg kg}^{-1}$ (CARNEADO et al., 2015; FAN et al., 2014; JESUS et al., 2016; KERESZTES et al., 2009; KIYATAKA et al., 2018; SÁNCHEZ-MARTÍNEZ et al., 2013; WELLE e FRANZ, 2011).

Segundo a literatura, o Sb_2O_3 vem sendo usado como catalisador na produção de embalagem PET, em quantidade de $250\text{-}300 \text{ mg kg}^{-1}$. Isso porque, este catalisador permite um balanço adequado de suas atividades catalíticas (estabilidade química na presença de estabilizantes a base de fósforo, cor do produto e baixo custo) (PAYÁN et al., 2017; ROMÃO, SPINACÉ e DE PAOLI, 2009). No entanto, o uso dessas embalagens em contato com alimentos e bebidas são preocupantes devido a possibilidade de lixiviação deste elemento para a matriz em contato com o PET. Assim, outros compostos vêm sendo relatados na literatura, em substituição aos compostos de Sb. Entre eles, destacam-se o óxido de germânio e catalisadores a base de titânio (Ti), os quais apresentam atividade catalítica superior ao Sb. No entanto, o uso desses catalisadores ainda é restrito. O uso do óxido de germânio é inviável, devido ao alto custo e implementação na indústria no processo de produção do PET (ROMÃO, SPINACÉ e DE PAOLI, 2009). Enquanto que o uso de compostos a base de titânio, torna-se inapropriado, devido a formação de ligantes quelantes ou alcóxidos, que por reações hidrolíticas, são decompostos a oxoalcóxidos, afetando a transparência do produto final. Além disso, outra desvantagem é a desativação desses catalisadores de Ti, na presença de estabilizantes a base de fósforo, presente na matriz polimérica (MACDONALD, 2002). Dessa forma, compostos de Ti (tetrabutóxido de titânio – $\text{Ti}(\text{OC}_4\text{H}_9)_4$) estão sendo estudados, visando melhorar suas características como catalisador e minimizar quantidades de uso ($10\text{-}30 \text{ mg kg}^{-1}$) (ROMÃO,

SPINACÉ e DE PAOLI, 2009). Entretanto, Sb ainda vem sendo amplamente utilizado como catalisador na produção do PET.

Para os estudos de migração do Sb do PET para bebidas ou alimentos, além do conhecimento do teor de Sb(total) na embalagem polimérica é importante avaliar as características das embalagens estudadas, tais como massa da embalagem, área da superfície de contato, relação entre área de contato/volume, etc.

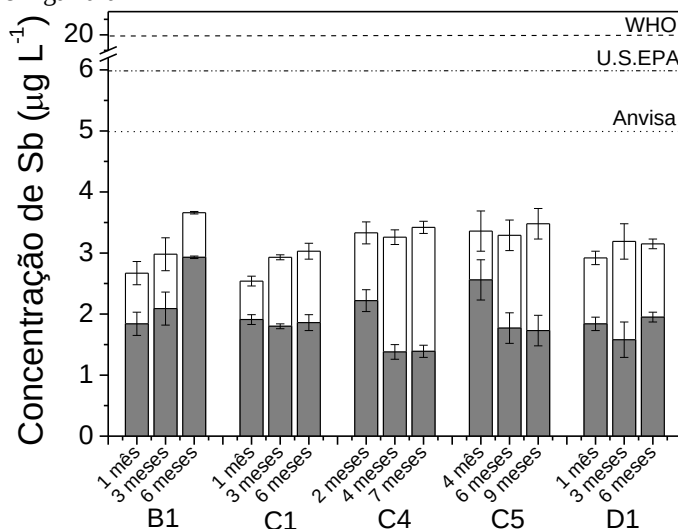
Assim, para essas 14 amostras dos três fabricantes, os valores de massa das embalagens PET variaram entre 12,11 g (marca B, embalagem de 500 mL) a 31,65 g (marca C, embalagem de 1500 mL). Os valores para área das superfícies de contato da garrafa com o seu conteúdo de água mineral foram determinados e variaram entre 247,0 cm² (Marca C, embalagem de 300 mL) e 774,5 cm² (Marca B, embalagem de 1500 mL). A relação entre a área de contato e o volume foi avaliada, de modo a verificar a área de contato de embalagem PET para cada mililitro de água mineral contida na embalagem, sendo obtidos valores na faixa 0,510 a 0,823 cm² mL⁻¹. Os valores médios para a relação entre área e o volume para os fabricantes A, B e C foram $0,700 \pm 0,008$, $0,700 \pm 0,118$ e $0,754 \pm 0,113$, respectivamente.

É esperado que o material utilizado na proteção, condicionamento de alimentos e bebidas seja inócuo e que não ocorra transferência de seus componentes para os alimentos e bebidas (MARINS, TANCREDI e GEMAL, 2014). Normalmente podem ser realizados ensaios de migração para a avaliação da possível transferência de componentes presentes na embalagem para a matriz alimentar ou bebida em contato. Uma maneira de avaliar a migração é através do uso do próprio alimento ou de simulantes. Simulante é uma substância que pode imitar um determinado grupo que apresenta características semelhantes (BRASIL, 2001). Neste trabalho foi avaliada a migração de espécies de Sb empregando essas duas abordagens.

3.3.7.2 Avaliação da migração de Sb de embalagens PET para água mineral engarrafada

Para confirmar a migração de Sb presente nas embalagens PET para água mineral envasada, um estudo foi realizado com cinco amostras de água mineral (denominadas de B1, C1, C4, C5 e D1) no qual consistiu em avaliar a especiação de Sb na água mineral logo após o envase e durante um período de até 09 meses para algumas amostras. Essas amostras foram escolhidas por serem bastante consumidas pela população paranaense. As amostras durante esse período foram estocadas em um local escuro e ventilado. Se o Sb é decorrente da lixiviação das embalagens PET é esperado que os teores de Sb aumentem com o aumento do tempo de envase (CARNEADO et al., 2015; WESTERHOFF et al., 2008). Os resultados para estudo de migração de Sb em função do tempo de estocagem estão apresentados na Figura 3.16.

Figura 3.16. Teores de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) determinados em água mineral comercial de acordo com o tempo de envase em garrafa PET



Nota: Os valores de desvio padrão para Sb(V) foram obtidos por propagação de erros

Fonte: A autora

A concentração média total de Sb nas amostras engarrafadas (Figura 3.16) foi de $3,0 \pm 0,4 \mu\text{g L}^{-1}$ no começo do estudo e $3,3 \pm 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ após 6 meses de estocagem em temperatura ambiente. Todas as amostras estudadas apresentaram concentração de Sb abaixo da legislação recomendada para U.S.EPA ($6,0 \mu\text{g L}^{-1}$) e WHO ($20,0 \mu\text{g L}^{-1}$) para água potável. Os valores médios determinados mostram que ocorreu um pequeno aumento de 10% nos teores de Sb total durante o período de estudo. Esse resultado pode indicar que o Sb sofre migração do PET para as amostras de água mineral. O teor inicial de Sb determinado pode ser decorrente da própria amostra de água mineral e pode ser oriundo do processo de migração. Porém, nota-se um aumento do Sb após um período de envase, indicando lixiviação do mesmo. Foi possível observar ainda, que o teor de Sb lixiviado continuou aumentando de forma mais pronunciada, para a amostra B1, no fim do estudo. Enquanto que para as demais amostras, a concentração de Sb determinada ao fim do estudo não apresentou uma diferença expressiva em relação a quantificação inicial de Sb nas amostras.

Os teores de Sb(total) aumentaram em relação a primeira análise, sendo observado uma porcentagem de aumento de Sb(total) de 2,6% a 27,0% nas 05 amostras avaliadas, indicando uma lixiviação de Sb a partir da garrafa PET para a água mineral. Um teste-t foi aplicado nas concentrações de Sb obtidas para as amostras após 06 meses de envase, indicando que somente as amostras B1 e C1 apresentaram aumento significativo na concentração de Sb, sendo de 27 % e 16 %, respectivamente. Enquanto que para as amostras C4, C5 e D1 nota-se um aumento de Sb de 2,6%, 3,6% e 7,9%, respectivamente. Esses resultados semelhantes de lixiviação de Sb para as amostras B1 e C1 podem ser comparados aos resultados que foram obtidos para

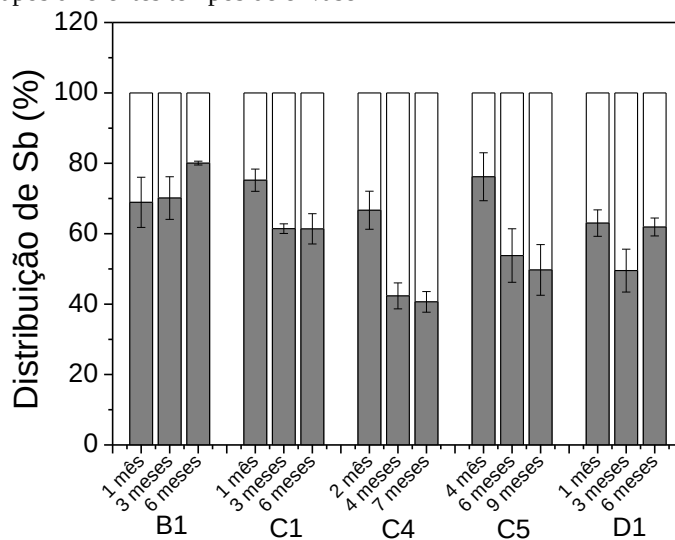
Shotyk e Krachler (2007), em que foi observada uma porcentagem de migração de 19,0% para amostras de água mineral do Canadá envasadas durante 6 meses, à temperatura ambiente.

Estudos na literatura tem sido realizado para a lixiviação de Sb de garrafas PET para água mineral. Em alguns estudos em que foram avaliados os teores de Sb em amostras de água mineral de acordo com o tempo de envase (2 meses a 3 anos), foi observado um aumento de 15 a 105% nos teores de Sb (ANDRA et al., 2012; KERESZTES et al., 2009; SHOTYK e KRACHLER, 2007; TUKUR et al., 2012; WESTERHOFF et al., 2008).

Além das concentrações totais de Sb determinadas nas amostras, é importante conhecer a sua especiação, considerando que Sb(III) apresenta uma maior toxicidade. Assim, a Figura 3.16 mostra ainda a especiação de Sb(III) e Sb(V) em termos de concentração, indicando que as concentrações de Sb(III) variaram de $1,8 \pm 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ (amostra A1) a $2,6 \pm 0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ (amostra C5) para as amostras de água mineral no começo do estudo. Após 06 meses de contato, os teores dessa mesma espécie variaram entre $1,4 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ a $2,93 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$.

A Figura 3.17 mostra a distribuição de Sb(III) e Sb(V) em relação ao Sb total presente nas amostras avaliadas no início do estudo e após o período de estocagem.

Figura 3.17. Distribuição percentual das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral avaliadas após diferentes tempos de envase



Fonte: A autora

A Figura 3.17 mostra a especiação de Sb na água mineral de diferentes marcas em função do tempo de estocagem. Como pode ser observado, ocorreu uma variação na distribuição das espécies de Sb nas amostras de acordo com o tempo de envase. A porcentagem média de Sb(III) contida nas 05 amostras de água mineral engarrafada em PET, no início do estudo foi de $70 \pm 7\%$ em relação à concentração total presente nas amostras. Portanto, Sb(III)

é a espécie majoritária. Após 06 meses de estocagem, à temperatura ambiente, a porcentagem média de Sb(III) presente nas amostras em relação à concentração total foi de $59 \pm 15\%$. De forma geral, foi observada (Figura 3.17) que após 06 meses de estocagem a fração de Sb(V) aumentou para as amostras avaliadas, com exceção da amostra B1. Diante disso, é sugerido que este comportamento pode ser explicado pela possibilidade da minimização da lixiviação de Sb a partir da garrafa PET após 06 meses de envase para as amostras com exceção da amostra B1. Além disso, considera-se ainda a possibilidade de oxidação de Sb(III) para Sb(VI), visto que em condições óxicas, normalmente é encontrado como espécie predominante em soluções aquosas o Sb(V) (FILELLA, M.; BELZILE, N.; CHEN, 2002a). Para amostra B1, a qual apresentou maior aumento de Sb total (27,0%) após 06 meses, foi observado um aumento de Sb(III) de 65% para 80% da concentração total de Sb presente na amostra. Esta amostra apresenta características de embalagem PET diferenciada (30% de PET a base de planta). As características das embalagens PET podem influenciar nos resultados obtidos, visto que as embalagens podem conter diferentes concentrações de Sb, bem como apresentar comportamento diferenciado na migração deste metaloide a partir da embalagem. Em um estudo descrito na literatura por Takahashi et al. foi determinado o estado de oxidação de Sb incorporado na garrafa PET (TAKAHASHI et al, 2008). Neste estudo, os autores observaram que Sb(III) adicionado inicialmente à embalagem na forma de Sb_2O_3 foi parcialmente oxidado à Sb(V) em algumas amostras. Assim, foi concluído pelos autores que o comportamento do Sb nas amostras de água é decorrente da degradação do PET.

Dessa forma, conhecendo as concentrações de Sb nas amostras no início do estudo e no fim, e tendo-se a concentração de Sb nas embalagens PET determinadas foi possível calcular o percentual de lixiviação de Sb em relação à concentração de Sb total presente na embalagem. Com isso, observa-se que no início do estudo as amostras apresentaram um percentual de lixiviação de 0,014 a 0,028%. Ao fim do estudo esse percentual de lixiviação apresentou um aumento, variando de 0,015 a 0,038%. Portanto, após observar que o Sb das embalagens PET pode sofrer migração para a bebida, ampliou-se o estudo para diferentes marcas de produtos comerciais, com diferentes características das embalagens e do produto em si.

3.3.7.3 Estudo da presença de Sb em água mineral engarrafada em PET

Trinta e seis amostras de água mineral brasileiras de 14 marcas diferentes com características diferentes (volume, gaseificação, cor de embalagem, entre outras) foram avaliadas no estudo do comportamento do Sb, provavelmente relacionado com a migração das embalagens PET usadas no envase das mesmas. Além disso, três amostras de água mineral

engarrafada em PET adquiridas no exterior foram também estudadas, sendo duas amostras adquiridas na França (P1 e Q1) e uma amostra no Paraguai (R1). De modo a comparar os resultados de Sb(total) obtidos para as amostras avaliadas foi aplicado um Teste de Tukey em um nível de 95,0% de confiança. Os resultados para concentração total de Sb, e suas diferentes formas e Teste de Tukey estão apresentados na Tabela 3.10. Para facilitar a comparação entre as amostras, os dados de concentração também foram apresentados em gráfico, conforme Figura 3.18.

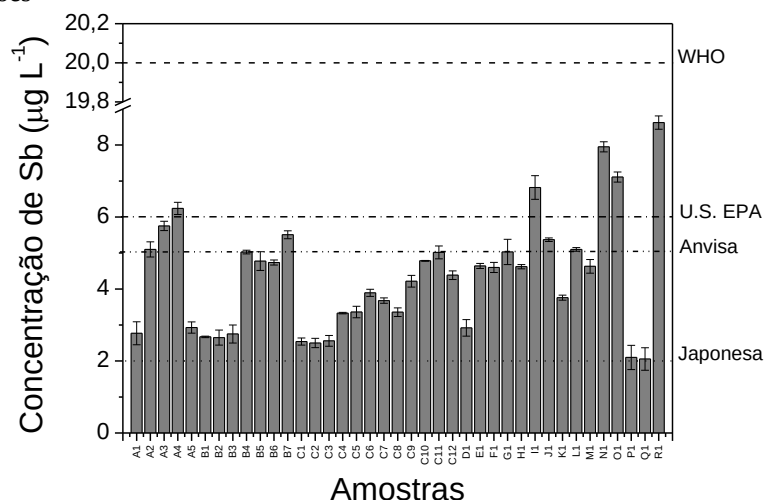
Tabela 3.10. Especificação de Sb(III) e Sb(V) em amostras de água mineral

Amostras	Volume do frasco (mL)	Sb(total) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sb(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sb(V) ($\mu\text{g L}^{-1}$) ^a	Teste de Tukey**
A1*	510	2,8±0,22	1,0±0,16	1,7±0,16	QR
A2	510	5,1±0,21	3,2±0,20	1,9±0,20	GH
A3	510	5,8±0,13	1,2±0,13	4,5±0,13	E
A4*	510	6,2±0,17	2,53±0,05	3,70±0,05	D
A5	510	2,9±0,15	2,3±0,12	0,6±0,12	Q
B1	500	2,67±0,02	1,8±0,19	0,83±0,19	QR
B2	500	2,7±0,21	1,9±0,16	0,8±0,16	QR
B3	500	2,7±0,25	1,9±0,27	0,9±0,27	QR
B4	350	5,03±0,05	1,8±0,16	3,23±0,16	HIJ
B5	500	4,8±0,26	1,2±0,16	3,6±0,16	HIJK
B6	1500	4,74±0,07	1,80±0,07	2,94±0,07	JKL
B7*	500	5,5±0,11	1,9±0,11	3,6±0,11	EF
C1	500	2,5±0,10	1,91±0,08	0,63±0,08	R
C2	500	2,5±0,13	1,8±0,28	0,7±0,28	R
C3	500	2,6±0,15	1,9±0,12	0,7±0,12	R
C4	300	3,33±0,02	2,2±0,18	1,13±0,18	P
C5	300	3,4±0,16	2,6±0,33	0,8±0,33	OP
C6	350	3,9±0,10	1,8±0,12	2,1±0,12	N
C7	500	3,68±0,08	1,01±0,05	2,67±0,05	NO
C8	1500	3,4±0,12	1,01±0,04	2,39±0,04	OP
C9	300	4,2±0,16	1,92±0,01	2,3±0,01	M
C10	300	4,78±0,01	1,12±0,00	2,66±0,00	IJK
C11	300	5,0±0,18	2,68±0,01	2,32±0,01	GHIJ
C12*	500	4,4±0,12	1,9±0,24	2,5±0,24	LM
D1	502	2,9±0,23	1,8±0,11	1,1±0,11	Q
E1	510	4,64±0,07	3,1±0,20	1,6±0,20	KL
F1	500	4,6±0,14	3,3±0,25	1,3±0,25	KL
G1	510	5,0±0,35	2,83±0,01	2,20±0,01	GH
H1	500	4,62±0,06	2,58±0,06	2,04±0,06	KL
I1	510	6,8±0,33	3,6±0,20	3,2±0,20	C
J1	510	5,37±0,05	3,13±0,00	2,24±0,00	FG
K1	510	3,76±0,07	2,2±0,25	1,56±0,25	N
L1	500	5,10±0,05	3,3±0,25	1,8±0,25	GHI
M1	500	4,6±0,19	3,3±0,30	1,3±0,30	KL
N1	510	7,9±0,14	2,92±0,03	5,00±0,03	B
O1	510	7,1±0,14	3,9±0,25	3,2±0,25	C
P1	500	2,1±0,24	1,02±0,02	1,10±0,02	ST
Q1	500	2,1±0,21	0,97±0,04	1,10±0,04	T
R1	500	8,6±0,19	4,56±0,06	4,04±0,06	A

^a Valores de Sb(V) foram determinados pela subtração de Sb(III) do valor de Sb(total) obtido; Os valores de desvio padrão para Sb(V) foram obtidos por propagação de erros; *Amostra de água mineral gaseificada; **Teste de Tukey: Letras iguais são semelhantes, letras diferentes apresentam diferenças

Fonte: A autora

Figura 3.18. Concentração de Sb(total) determinada nas amostras de água mineral envasadas em embalagens PET. As linhas mostradas no gráfico, correspondem aos limites máximo de Sb(total) adotados pelas legislações



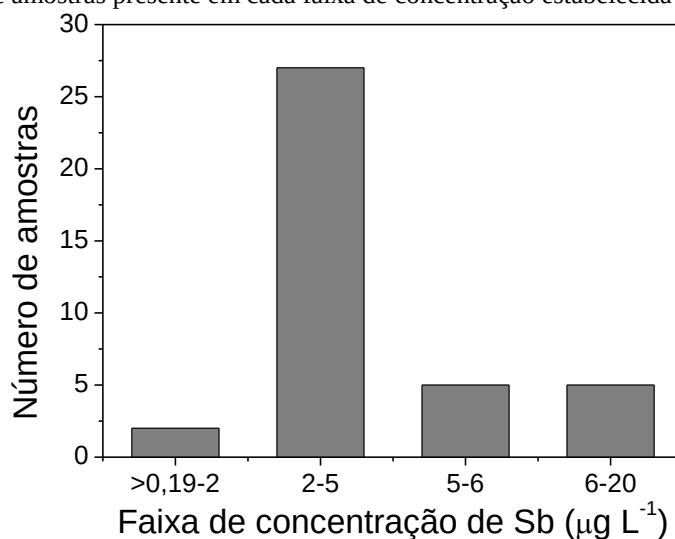
Fonte: A autora

Os resultados obtidos para a concentração total de Sb nas amostras de água mineral (Tabela 3.10 e Figura 3.18) mostram que o Sb(total) foi quantificado para todas as amostras avaliadas, sendo encontrados valores que variaram entre $2,1 \pm 0,21 \mu\text{g L}^{-1}$ (marca Q) e $8,6 \pm 0,19 \mu\text{g L}^{-1}$ (marca R). Aos resultados para Sb(total) apresentados na Tabela 3.10 foi aplicado um Teste de Tukey em um nível de 95,0% de confiança. O teste de Tukey, mostrou que existem diferenças significativas entre as amostras avaliadas ($F_{\text{observado}} = 712,16 > F_{\text{crítico}}, p < 0,005$), fato este, que também foi observado visualmente na Figura 3.18.

Observa-se que todas as amostras apresentaram teores de Sb dentro do limite estabelecido pela *World Health Organization* (WHO) ($20,0 \mu\text{g L}^{-1}$) para água mineral (WHO, 2003). No entanto, 14% das amostras estão fora do limite adotado pela legislação da *United States Environmental Protection Agency* (U.S.EPA) ($6,0 \mu\text{g L}^{-1}$) para água mineral (EPA, 1996). Além disso, as concentrações de Sb determinadas em todas as amostras avaliadas neste estudo estão acima dos limites adotados pela Legislação Japonesa ($2,0 \mu\text{g L}^{-1}$) para água potável (SHOTYK e KRACHLER, 2007). Com relação aos limites estipulados pela ANVISA, 36% das amostras estão acima do limite de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para água mineral e natural (BRASIL, 2005).

Diante disso, observa-se de uma forma geral, que as amostras se encontram dentro do limite estabelecido pela legislação WHO, sugerindo que as amostras não apresentam risco à saúde humana. No entanto, com um grande número de amostra é difícil de avaliar as diferenças em termos de concentração das amostras, assim um gráfico foi construído para avaliar o número de amostras que apresentam teores de Sb dentro de uma faixa de concentração, conforme Figura 3.19.

Figura 3.19. Número de amostras presente em cada faixa de concentração estabelecida pela legislação



Fonte: A autora

A Figura 3.19 mostra o número de amostras que apresentam concentração de Sb nos limites adotados pelas legislações, sendo Legislação Japonesa ($2,0 \mu\text{g L}^{-1}$), Anvisa ($5,0 \mu\text{g L}^{-1}$), U.S. EPA ($6,0 \mu\text{g L}^{-1}$) e WHO ($20,0 \mu\text{g L}^{-1}$). Como pode ser observado, das 39 amostras avaliadas, 27 amostras apresentam concentração de Sb na faixa de $2-5 \mu\text{g L}^{-1}$, limite adotado pela Anvisa. Isso sugere que de uma forma geral as amostras apresentaram concentrações dentro dos limites adotados pela legislação Brasileira. Sobre as amostras da França (P1 e Q1) observa-se que as concentrações de Sb(total) ($2,1 \mu\text{g L}^{-1}$) foram as menores concentrações se comparada com as amostras brasileiras. Além disso, os teores de Sb(total) nas amostras francesas foram acima, porém muito próxima da Legislação Japonesa ($2,0 \mu\text{g L}^{-1}$). Para a amostra de água mineral do Paraguai (R1), a concentração de Sb(total) ($8,6 \mu\text{g L}^{-1}$) foi superior a todas as amostras brasileiras avaliadas.

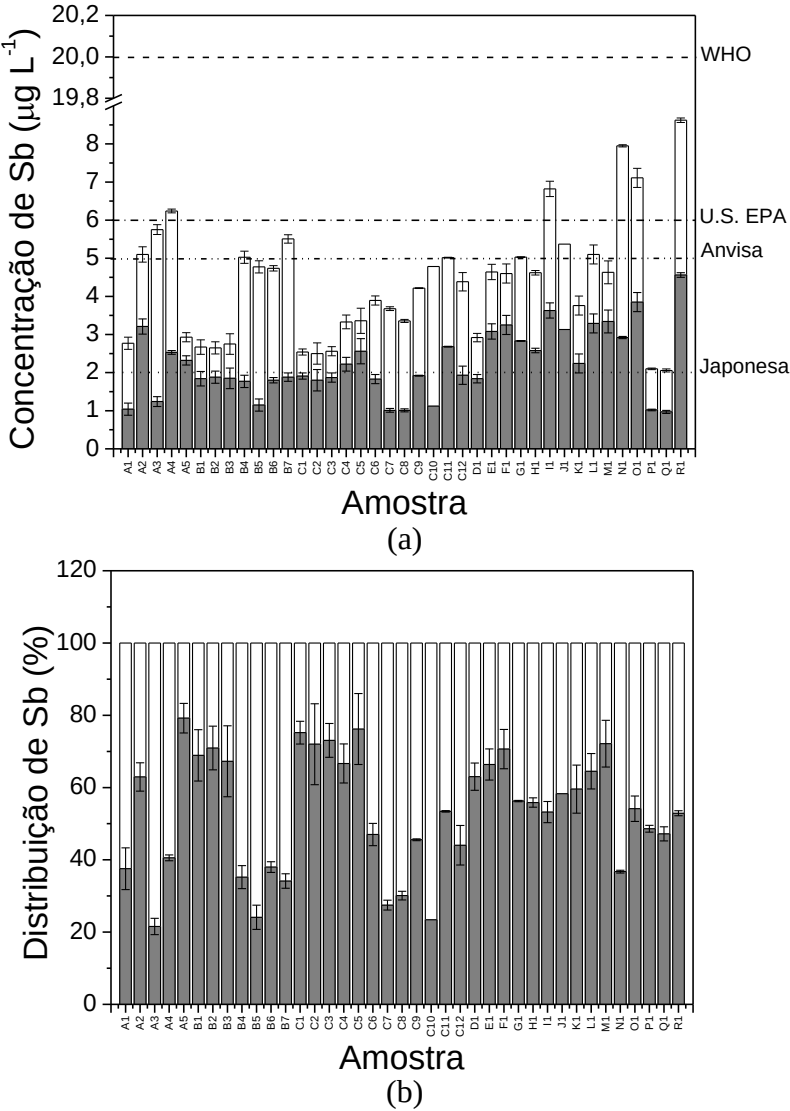
Na literatura foi possível encontrar concentrações de Sb(total) na faixa de $0,033$ a $6,61 \mu\text{g L}^{-1}$ de água mineral (CHAPA-MARTÍNEZ et al., 2016; FAN et al., 2014; TUKUR et al., 2012; WESTERHOFF et al., 2008). Os resultados obtidos neste estudo foram similares aos encontrados na literatura. Diferenças nas concentrações de Sb obtidas podem estar associadas com o tipo de embalagem de envase das amostras, o pH, a temperatura e tempo de estocagem das amostras.

Como foram determinados as concentrações de Sb total nas amostras de água mineral avaliadas e os teores de Sb (mg kg^{-1}) nas embalagens PET para os fabricantes A, B e C, foi possível calcular a porcentagem de lixiviação, considerando que o Sb presente na amostra tenha sido proveniente da embalagem e não da fonte de origem da água. Assim, os resultados

estimados para a lixiviação percentual média de Sb a partir da embalagem PET para a água mineral foi de $0,036 \pm 0,006\%$ para os três fabricantes estudados.

As legislações para diversos elementos, incluindo o Sb, estabelecem concentrações totais desses elementos. No entanto, os elementos apresentam comportamento diferenciado de suas espécies, bem como toxicidade. Dessa forma, conhecer a especiação desses elementos em matrizes diversas, tais como a água é importante, como forma de não somente avaliar a presença dos elementos em uma matriz, mas também sua especiação. Diante disso, a especiação de Sb(III) e Sb(V) foi realizada nas amostras, sendo os resultados apresentados na Tabela 3.10. Com os dados obtidos, foi calculada a porcentagem das duas espécies em relação ao teor total (Sb total) para avaliar a especiação desse elemento. A concentração e distribuição das espécies de Sb(III) e Sb(V) nas amostras de água mineral pode ser observada na Figura 3.20.

Figura 3.20. (a) Concentração de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral avaliadas e (b) distribuição percentual de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) em relação ao teor de Sb(total) presente nas amostras



Fonte: A autora

Além da concentração total de Sb é importante conhecer a especiação dessa espécie nas amostras, visto que Sb(III) apresenta maior toxicidade que Sb(V). A Figura 3.20a mostra que a concentração de Sb(III) nas amostras de água mineral avaliadas variou de $0,97 \pm 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$ a $4,56 \pm 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$. E a concentração de Sb(V) determinadas nas amostras ficou na faixa de 0,6 a $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Para se avaliar a especiação de maneira correta é importante avaliar a distribuição das espécies, pois as concentrações totais são diferentes. A Figura 3.20b mostra a distribuição de Sb(III) e Sb(V) para as trinta e nove amostras analisadas. Na Figura 3.20b, observa-se que a porcentagem de Sb(III) nas amostras variou entre 22% e 79%, enquanto que Sb(V) variou de 21% a 79% do total de Sb. Diante disso, é possível verificar que 59% das amostras analisadas (23 amostras) apresentaram o Sb(III) como espécie majoritária, o que significa que representam entre 52,9 e 79,2% do teor total de Sb. E apenas 41% das amostras, cerca de 16 amostras apresentaram como espécie majoritária o Sb(V). Assim, observa-se de uma forma geral, que a forma de Sb predominante nas amostras de água mineral avaliadas é o Sb trivalente (espécie mais tóxica). No entanto, é esperado que Sb(V) seja a espécie geralmente encontrada em soluções, pela sua estabilidade em condições ricas em oxigênio (CARNEADO et al., 2015, FILELLA, BELZILE, CHEN, 2002a). Diante disso, levando-se em consideração de Sb_2O_3 é adicionado à embalagem PET e considerando a obtenção de maiores teores de Sb(III) nas amostras avaliadas neste estudo, é sugerido uma possível relação com a lixiviação de Sb a partir das embalagens PET para a água mineral. Além disso, outros fatores podem influenciar esse comportamento, tais com a degradação da embalagem PET, condições de estocagem (tempo, temperatura e presença de radiação solar), entre outros.

Na literatura foram encontrados valores de Sb(III) e Sb(V) abaixo de $0,50 \pm 0,03 \mu\text{g L}^{-1}$ para água mineral, água de rio e água de mar sintética (RIVAS, LÓPEZ-GARCIA e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2009; SOUZA e TARLEY, 2008). Para outros estudos foram obtidos valores de Sb(V) na faixa de 0,41 a $2,50 \mu\text{g L}^{-1}$ e de Sb(III) na faixa de <LOD (0,086) a $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ em água potável (LI, HU e JIANG, 2006; MARCINKOWSKA et al., 2016). Para águas superficiais (rios e lagos) foram obtidos valores de 0,015 a $1,30 \mu\text{g L}^{-1}$ e 0,121 a $2,83 \mu\text{g L}^{-1}$ para Sb(III) e Sb(V), respectivamente (LI, HU e JIANG, 2006; LI et al., 2015; WEN e ZHU, 2013; WU et al., 2011). Alguns estudos, embora não apresentaram valores para especiação de Sb(III) e Sb(V), indicam que os teores de Sb(V) foram superiores ou similares aos obtidos para Sb(III) (HANSEN e PERGANTIS, 2006; SÁNCHEZ-MARTÍNEZ et al., 2013; TAKAHASHI et al., 2008).

Foi possível verificar de forma geral, que as amostras apresentaram concentrações diferenciadas de Sb total e das formas químicas de Sb. Esses teores de Sb podem estar associados com a lixiviação desse elemento para a matriz, bem como às características das embalagens e das amostras, do pH e do tempo de estocagem. Algumas amostras apresentaram teores de Sb acima dos limites aceitos pela legislação brasileira e internacional. Em relação à especiação, não são estabelecidos limites na legislação. No entanto, observa-se que algumas amostras apresentam concentrações máximas de Sb(III) e Sb(V) próxima ao limite máximo permitido para Sb(total) pela legislação brasileira. Isso mostra a importância de se avaliar a especiação e monitorar as concentrações deste elemento em amostras de água mineral envasada em PET, visando garantir a qualidade e segurança alimentar do ser humano.

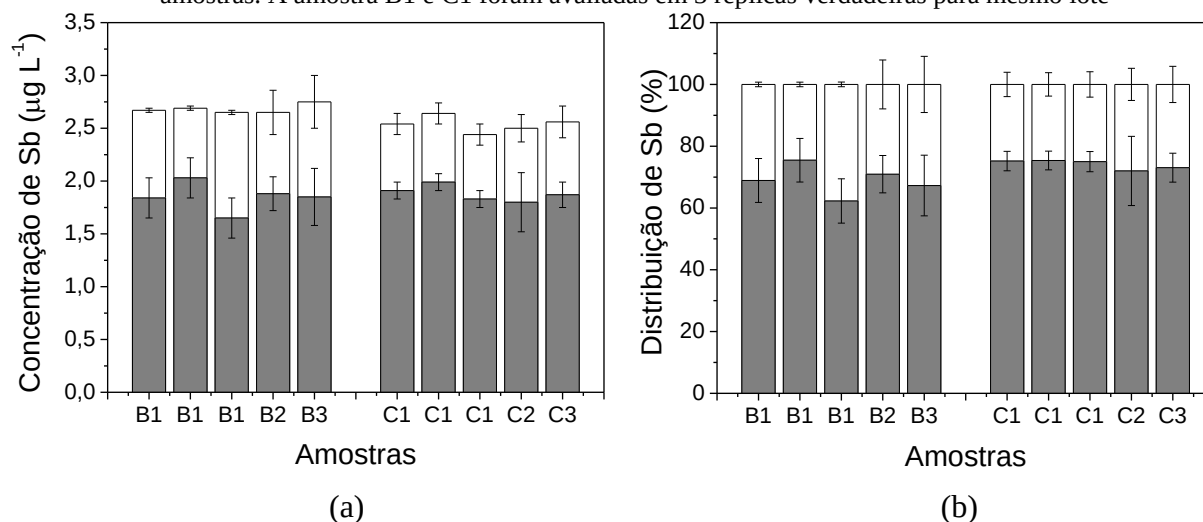
Para melhor compreender a presença Sb nas amostras de água mineral e os fatores que influenciam no estado de oxidação do mesmo, outras avaliações foram realizadas com os dados obtidos tais como comparação entre lotes, volumes das embalagens, etc.

3.3.7.3.1 Avaliação da influência de diferentes fatores na concentração e especiação de Sb em água mineral

Para possibilitar explorar melhor os dados obtidos para as 39 amostras de água mineral (Tabela 3.10), foram realizadas comparações entre algumas amostras visando estabelecer correlações entre alguns fatores e a presença de Sb.

Um primeiro fator avaliado foi a representatividade do estudo, para isso foi comparado os valores de Sb para amostras de um mesmo fabricante, porém para lotes iguais e diferentes. A Figura 3.21, mostra a concentração de Sb(total) obtida nas amostras bem como sua especiação para amostras dos fabricantes (B e C) e lotes iguais (números iguais) e lotes diferentes (números diferentes).

Figura 3.21. (a) Concentração de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral de lotes iguais e lotes diferentes para os fabricantes (B e C) e (b) distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras. A amostra B1 e C1 foram avaliadas em 3 réplicas verdadeiras para mesmo lote



Fonte: A autora

A Figura 3.21a, mostra os resultados de concentração de Sb obtidas para as amostras de mesmo lote e lotes diferentes para dois fabricantes (B e C). As amostras B1 e C1, representam as amostras avaliadas em triplicata para comparação de mesmo lote para os fabricantes B e C, respectivamente. De um modo geral, é possível observar que a concentração de Sb para amostras de um mesmo fabricante e lotes iguais são similares entre si, comprovadas pelo teste estatístico de Tukey. As amostras B1, B2 e B3 e as amostras C1, C2 e C3 são amostras dos fabricantes B e C, respectivamente, porém de lotes diferentes. De forma semelhante às amostras de lotes iguais, as amostras de lotes diferentes apresentaram concentrações de Sb similares entre si, para um mesmo fabricante, podendo-se sugerir assim, uma representatividade amostral.

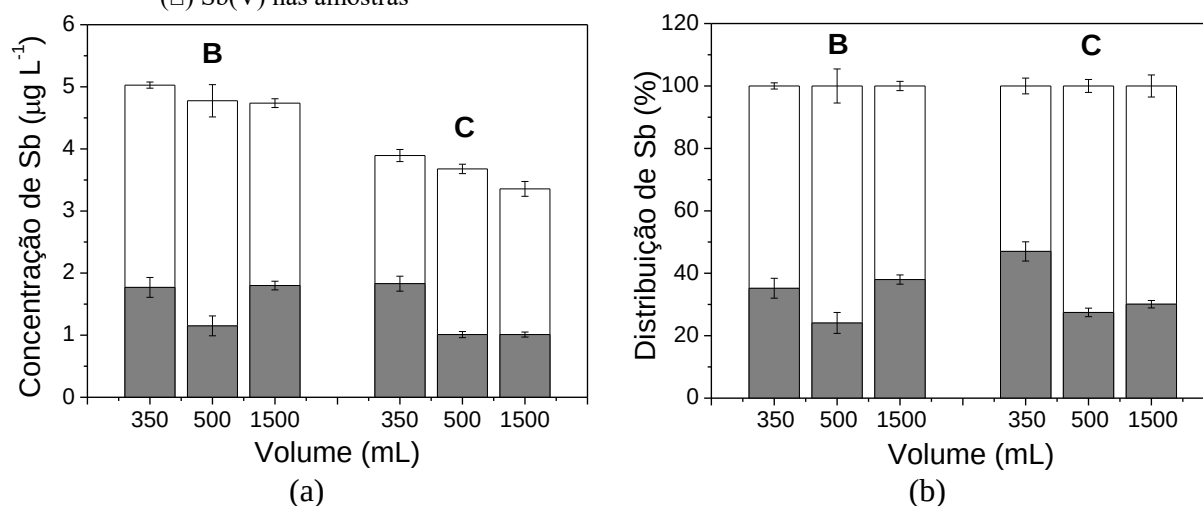
A Figura 3.21b, mostra a distribuição das espécies de Sb(III) e Sb(V) em relação à concentração total de Sb presente nas amostras de água mineral avaliadas. Como pode ser observado, de um modo geral, as amostras de mesmo lote B1 e C1, apresentaram como espécie predominante o Sb(III), com porcentagem média de $68,9 \pm 6,6$ % para a amostra B1 e $75,2 \pm 0,2$ % para a amostra C1. Comportamento semelhante, com predominância da espécie de Sb(III) foi observado para amostras do mesmo fabricante mas de lotes diferentes.

Portanto, para os fabricantes estudados, as amostras avaliadas para um mesmo fabricante se mostraram representativas, independentemente se são de mesmo lote ou lotes diferentes.

Um segundo fator avaliado foi a influência dos volumes das amostras e consequentemente das áreas das embalagens nos teores de Sb. Escolheu-se dois fabricantes

distintos (B e C) e amostras de diferentes volumes (300 mL até 1500 mL). Os resultados para essas amostras estão mostrados na Figura 3.22.

Figura 3.22. Concentração de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral envasada em garrafas PET de diferentes volumes para dois fabricantes (B e C) e (b) distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras



Fonte: A autora

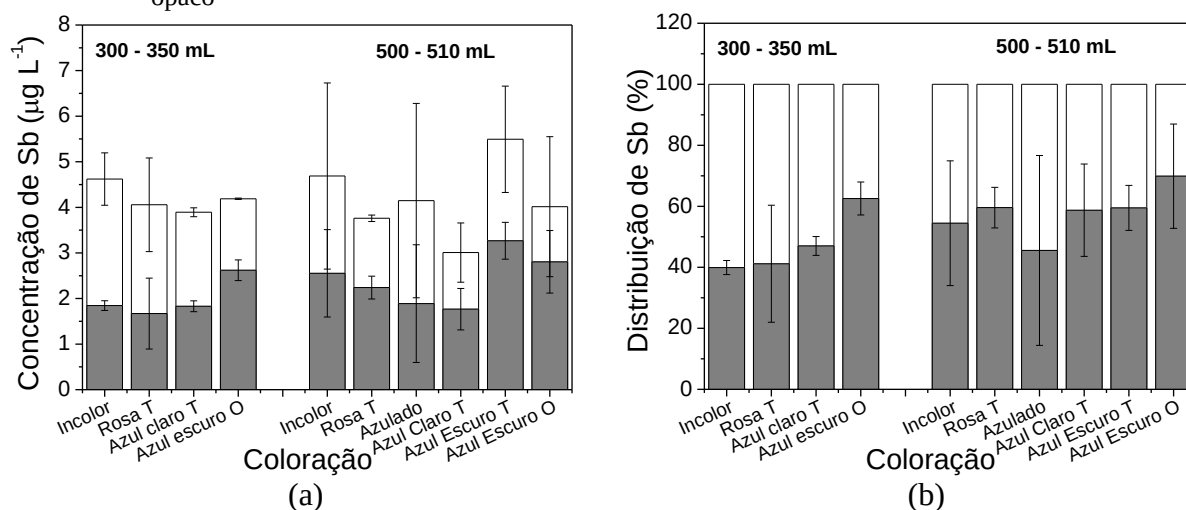
Como pode ser observado na Figura 3.22a, as amostras de água mineral envasadas em embalagens PET de diferentes volumes (350, 500 e 1500 mL) apresentam comportamentos diferentes para as duas marcas avaliadas. Para o fabricante B, em diferentes volumes foram obtidos os teores de Sb total em amostras de água mineral na faixa de $4,74 \pm 0,07$ a $5,03 \pm 0,05 \mu\text{g L}^{-1}$. Um teste de Tukey foi realizado ($F_{\text{calculado}} = 2,98$, $p(0,126) > 0,05$), indicando que as concentrações de Sb em diferentes volumes de embalagem deste fabricante, não diferem significativamente entre si. Para o fabricante C as concentrações de Sb em diferentes volumes de embalagens variaram de $3,4 \pm 0,12$ a $3,9 \pm 0,10 \mu\text{g L}^{-1}$. O teste de Tukey ($F_{\text{calculado}} = 22,25$, $p(0,002) < 0,05$), indicou a presença de diferenças significativas entre as amostras, sendo esta diferença observada para a amostra de água mineral envasada em embalagem de 1500 mL. Dessa forma, observa-se de um modo geral uma tendência a amostras de menor volume apresentarem maiores concentrações de Sb para ambos os fabricantes. No entanto essa tendência não foi significativa estatisticamente. Segundo a literatura, no caso de amostras de água engarrafadas em mesma embalagem, mas de volumes diferentes, as amostras de água de embalagens menores apresentam maior concentração de Sb. Isso pode ocorrer, devido a área de superfície de contato entre a água e a embalagem PET ser maior (KERESZTES et al, 2009). O mesmo comportamento foi observado por Westerhoff et al. (2008), que relacionou inversamente o tamanho da embalagem com a ocorrência de migração de Sb (WESTERHOFF

et al., 2008). Diante disso, a relação área/volume para as amostras do fabricante B e C foi determinada, com valores de $0,510\text{-}0,516\text{ cm}^2\text{ mL}^{-1}$ para volume de 1500 mL; $0,737\text{-}0,744\text{ cm}^2\text{ mL}^{-1}$ para volume de 500 mL; e $0,774\text{-}0,808\text{ cm}^2\text{ mL}^{-1}$ para volume de 350 mL. A variação desses valores está associada ao tamanho e formato da embalagem, que é diferente para cada volume e fabricante. Com isso, observa-se que para os fabricantes a relação área/volume é maior para embalagens de 350 mL. Isso sugere que, a superfície de contato entre a amostra de água mineral e a embalagem PET é maior, favorecendo a presença de concentrações de Sb um pouco superiores.

A Figura 3.22b, mostra a distribuição das espécies de Sb(III) e Sb(V) em relação à concentração total de Sb presente na amostra. De um modo geral, foi possível observar que a espécie predominante foi Sb(V) para as amostras de água mineral envasada em diferentes volumes de embalagens, representando uma porcentagem média de $67,6\pm 7,4\%$ e $62,2\pm 12,3\%$ para os fabricantes B e C, respectivamente. Para a distribuição das espécies, foi observado de um modo geral que o volume não apresentou influência.

Segundo a literatura a coloração da embalagem PET pode ser um fator importante para descrever o comportamento das espécies de Sb em amostra de água mineral (PAYÁN et al., 2017). Diante disso, as concentrações de Sb obtidas nas amostras de água mineral engarrafada em embalagens PET de diferentes colorações foram comparadas para amostras de mesmo volume, porém de fabricantes diferentes. Os resultados para as concentrações de Sb em água mineral envasadas em PET, de diferentes colorações estão mostrados na Figura 3.23.

Figura 3.23. Concentrações médias de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral envasada em garrafas PET de diferentes colorações para embalagens de 300-350 mL e 500-510 mL e (b) distribuição média das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras. T significa translúcido e O significa opaco



Fonte: A autora

A Figura 3.23a mostra a concentração média obtida de Sb nas amostras de água mineral envasada em garrafas PET de diferentes colorações. É possível observar que as amostras envasadas em embalagens de 300-350 mL apresentaram concentrações médias de Sb similares entre si. Este fato foi comprovado por uma análise de variância (ANOVA) a 95% de confiança, sendo obtido os resultados para o teste-F ($F = 0,84 < F_{\text{crítico}} (3,59)$, $p = 0,511$). De forma similar para amostras de água mineral envasadas em embalagens de 500-510 mL, as concentrações médias de Sb foram similares entre si ($F = 1,00 < F_{\text{crítico}} (2,81)$, $p = 0,460$). Segundo a literatura, é esperado que amostras de água mineral contidas em embalagens de coloração mais escura apresentem maiores concentrações de Sb (Reimann et al., 2010). É sugerido que os pigmentos adicionados nas embalagens, que conferem a cor à embalagem PET, facilitam o processo de lixiviação de Sb (PAYÁN et al., 2017). No entanto, avaliando-se as amostras estudadas, foi possível verificar um comportamento diferenciado, o que sugere que para estas amostras a coloração da embalagem não foi um fator predominante para explicar o comportamento do elemento na matriz.

Um comportamento diferenciado foi observado para o fabricante C, em que foi avaliada a concentração de Sb em amostras de água mineral envasada em embalagens PET de mesmo volume (300 mL) e mesma fonte, mas em diferentes colorações (Tabela 3.10). As amostras C9, C10 e C11 apresentam colorações distintas, sendo incolor, rosa e azul escuro opaco, respectivamente. As concentrações de Sb para C9, C10 e C11 foram de $4,2 \pm 0,16$, $4,78 \pm 0,01$ e $5,0 \pm 0,18 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, sendo observado que as concentrações de Sb foram diferentes entre si (Teste-t e teste de Tukey). Dessas amostras, a amostra C11 é a que apresenta concentração de Sb superior e coloração mais escura. Sugere-se assim, que a variação observada na concentração de Sb para essas três amostras, para um mesmo volume (300 mL), pode estar relacionada com a cor da embalagem, neste caso em particular, visto que a embalagem de coloração mais escura apresentou a maior concentração de Sb.

Com relação à especiação, é possível verificar na Figura 3.23b que de um modo geral, as embalagens de coloração escura (azul escuro opaco) apresentaram os maiores teores de Sb(III), sendo 62,6 % para o volume de 300-350 mL e 69,9 % para o volume de 500-510 mL. Esse comportamento sugere que a embalagem PET de coloração escura pode conter maiores concentrações de Sb no estado de oxidação +3, o qual pode migrar para amostra de água mineral. As embalagens de coloração mais clara apresentaram os menores teores de Sb(III) em solução para ambos os volumes.

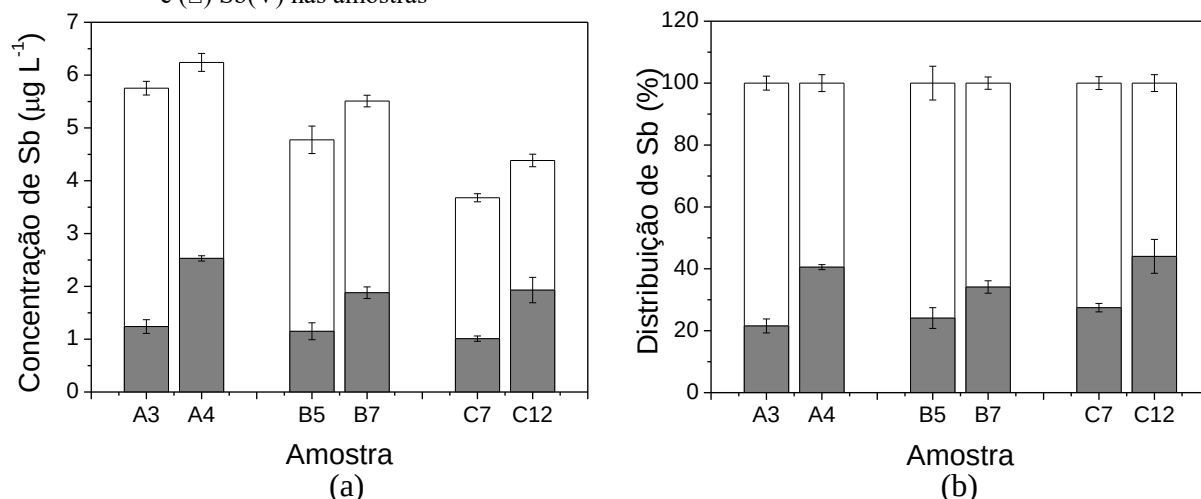
Payán et al. (2017) avaliou o teor de Sb em amostras de água mineral envasada em embalagens PET incolores e de diferentes colorações, sob diferentes condições de tempo e

temperatura. Os autores verificaram que a cor não foi um fator importante, pois não contribuiu para explicar o comportamento das espécies de Sb, nas condições avaliadas (PAYÁN et al., 2017). Enquanto que Welle e Franz (2011) estudaram a migração de Sb para a água envasada em embalagens PET de diferentes colorações e observaram que a migração de Sb a partir de embalagens coloridas foi mais pronunciada do que de embalagens incolores (WELLE e FRANZ (2011).

Portanto, neste trabalho foi observado que a amostras de água mineral apresentaram concentração de Sb diferenciadas, independente da coloração da embalagem PET. Isso indica que a cor da embalagem não apresentou influência na presença de Sb nas amostras de água mineral avaliadas.

Outro fator a ser avaliado, foi a presença de amostras carbonatadas dentre as amostras estudadas. Foi avaliado o comportamento das espécies de Sb em amostras de água mineral natural e gaseificada envasada em embalagens PET de 03 diferentes fabricantes (A, B e C). Os resultados para este estudo estão apresentados na Figura 3.24.

Figura 3.24. Concentrações de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras de água mineral natural (A3, B5 e C7) e gaseificada (A4, B7 e C12) envasada em garrafas PET e (b) distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) nas amostras



Fonte: A autora

A Figura 3.24a, mostra a concentração de Sb em amostras de água mineral natural e gaseificada engarrafada em PET. Como pode ser observado, para as 03 marcas avaliadas (A, B e C), as concentrações de Sb foram maiores nas amostras de água gaseificada (A4, B7 e C12). Embora as informações fornecidas nas embalagens das amostras indicassem valores de pH similares para água mineral natural e gaseificada, as medições de pH em laboratório mostraram que os valores de pH para as amostras de água mineral gaseificadas foram menores (Tabela

3.1). Sugere-se então, que o pH pode ter influenciado na obtenção de maiores valores de Sb para as amostras. Segundo a literatura a velocidade de lixiviação de Sb é maior em amostras de água mineral gaseificada, indicando que as mesmas apresentam maiores concentrações de Sb (KERESZTES et al., 2009). Segundo Andra et al (2012), amostras gaseificadas apresentam menores valores de pH. Dessa forma, a lixiviação de Sb a partir da embalagem pode ser mais efetiva. Isso ocorre devido ao meio mais ácido que pode degradar a embalagem PET, facilitando a lixiviação deste elemento (ANDRA et al., 2012). Assim, os resultados obtidos para este estudo são concordantes com a literatura.

Com relação à especiação, a Figura 3.24b mostra o percentual das espécies de Sb nas amostras de água mineral natural e gaseificada em relação à concentração total de Sb. Observando-se os resultados é possível verificar que o Sb(III) representou 21 a 44 % de Sb presente nas amostras, enquanto Sb(V) foi a espécie predominante com 56 a 78 %. De uma forma geral, foi possível verificar que para os 03 fabricantes avaliados, o percentual de Sb(III) foi maior nas amostras de água mineral gaseificada, se comparada as amostras de água mineral natural. Sugere-se que como as amostras de água mineral gaseificadas apresentam valores de pH menores, este fator pode contribuir para a migração de Sb(III) a partir da embalagem. Dessa forma, as amostras de água mineral gaseificadas apresentaram uma porcentagem de Sb de 63,5 a 104% maior do que as amostras de água mineral natural. Keresztes et al. (2009) avaliaram a presença de Sb em amostras de água mineral natural e gaseificada, e observaram que as amostras carbonatadas apresentavam maiores concentrações de Sb ($0,4 \pm 0,22 \text{ ng mL}^{-1}$) em comparação às amostras não carbonatadas ($0,3 \pm 0,16 \text{ ng mL}^{-1}$).

Após avaliação desses fatores (lote, volume, coloração de embalagem e gaseificação) é possível verificar de forma geral, que o lote e a coloração das embalagens não apresentam influência nos teores de Sb observados. Enquanto que o volume e a gaseificação são fatores que podem explicar a variabilidade nos teores de Sb observados.

Além do estudo desses fatores, a influência da temperatura na migração de Sb a partir da garrafa PET para a água mineral e as condições de estocagem (geladeira e radiação solar) foram avaliadas.

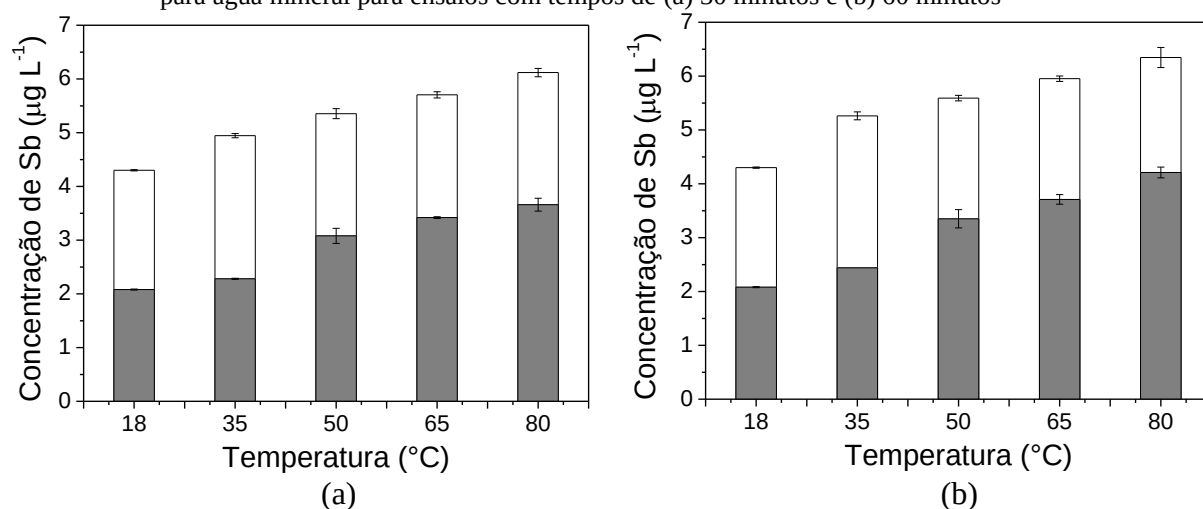
3.3.7.4 Avaliação da influência da temperatura e radiação solar na migração de Sb de embalagens PET para água mineral

Normalmente, as garrafas de água mineral são estocadas de maneiras diferentes pela população em geral, assim é importante avaliar a influência de fatores como temperatura e radiação solar na migração do Sb do polímero para a bebida. Esses ensaios foram conduzidos

com a água mineral comercial do fabricante B. Esse fabricante foi escolhido porque no estudo de tempo de envase, a amostra desse fabricante apresentou o maior aumento de Sb em função do tempo de estocagem.

A concentração inicial da amostra foi determinada à temperatura ambiente (18°C). Em seguida, neste estudo, as concentrações de Sb foram determinadas em amostras de água mineral após manter as mesmas sob diferentes condições de temperatura (35°C a 80°C) durante 30 e 60 minutos. A Figura 3.25 mostra os resultados para as concentrações de Sb total nas amostras de água mineral após 30 e 60 minutos de contato para cada temperatura avaliada em relação à concentração inicial de Sb.

Figura 3.25. Avaliação da influência da temperatura na migração de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) de embalagens PET para água mineral para ensaios com tempos de (a) 30 minutos e (b) 60 minutos



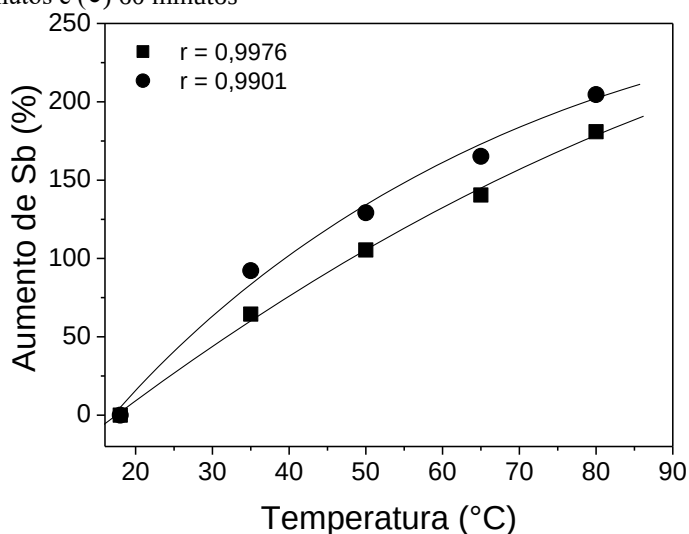
Fonte: A autora

A Figura 3.25 mostra a variação da concentração de Sb presente em água mineral após aquecimento das embalagens PET em diferentes tempos. De um modo geral, é possível notar que conforme as embalagens PET são aquecidas, ocorre um aumento no teor de Sb na água mineral. Para um período de aquecimento de 30 min., é possível observar na Figura 3.25a que a concentração de Sb variou entre $4,3 \pm 0,12 \mu\text{g L}^{-1}$ (18°C) e $6,119 \pm 0,077 \mu\text{g L}^{-1}$ (80 °C). Para um maior tempo de aquecimento (60 min), os teores de Sb apresentados na Figura 3.25b variaram de $4,3 \pm 0,12$ (18°C) a $6,346 \pm 0,187 \mu\text{g L}^{-1}$ (80 °C). Os resultados mostraram que um aumento na temperatura proporcionou um aumento na concentração de Sb total presente na amostra para os dois tempos estudados. Sugere-se que esse comportamento esteja relacionado, ao fato de que um aumento de temperatura pode causar degradação da embalagem. Dessa forma, poderia ocorrer a modificação das propriedades das embalagens PET, tais como a maleabilidade/rigidez, brilho, estabilidade a luz, descoloração da embalagem, entre outras

(FREIRE, REYES e CASTLE, 1998). Além disso, compostos podem ser formados, pela degradação térmica da embalagem, tais como ésteres vinílicos, substâncias voláteis (principalmente dióxido de carbono – CO_2 , e acetaldeído), anidridos entre outros (Freire et al., 1998). A formação desses produtos de degradação, como o CO_2 poderia contribuir para uma maior migração de Sb da embalagem para a matriz da água mineral, como já observado anteriormente nos estudos de presença de Sb em águas minerais naturais e carbonatadas. Nota-se que à 50°C a concentração de Sb nas amostras ultrapassa o limite adotado pela Anvisa ($5,0 \mu\text{g L}^{-1}$).

Com os valores de concentração obtidos para cada temperatura foi calculado a porcentagem de aumento de Sb nas amostras. A Figura 3.26 mostra a porcentagem de aumento de Sb em relação a concentração inicial de Sb na amostra de água mineral (temperatura de 18°C).

Figura 3.26. Aumento percentual de Sb nas amostras avaliadas de acordo com o aumento de temperatura para (■) 30 minutos e (●) 60 minutos



Fonte: A autora

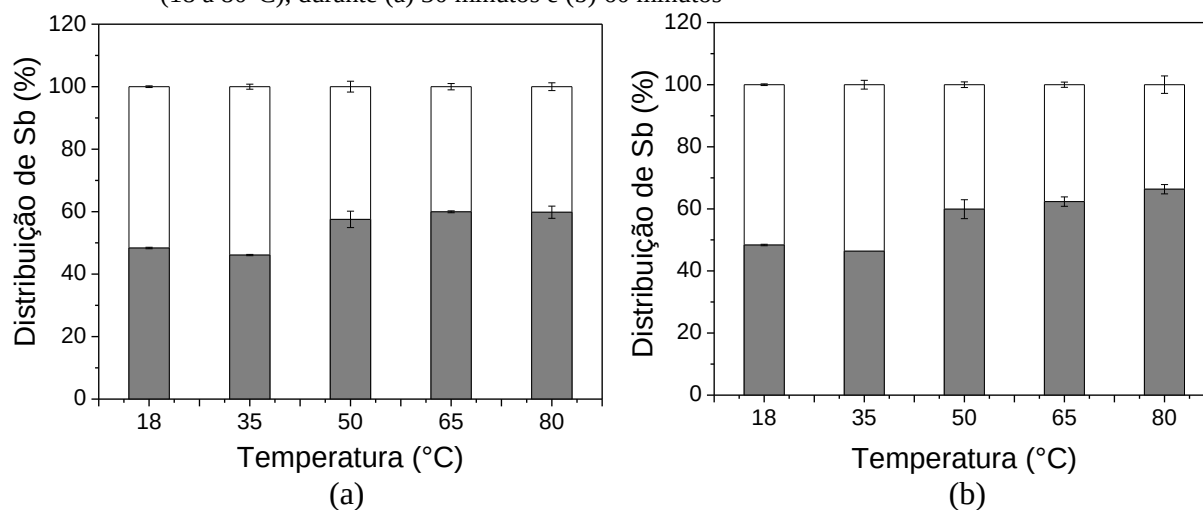
A Figura 3.26 mostra a porcentagem de aumento de Sb na amostra de água mineral em função da concentração inicial da amostra. Como pode ser observado, o aumento da temperatura promoveu um aumento na concentração de Sb de 64,5 a 181,9% para 30 min de aquecimento e 96,2 a 204,6%, para o tempo de 60 minutos. Além disso, na figura é possível observar um aumento polinomial de Sb total em função do aumento da temperatura, com coeficiente de correlação de 0,9976 e 0,9901 para os ensaios de 30 e 60 min, respectivamente. Isso mostra que a temperatura contribui para a migração de Sb da embalagem PET para a amostra de água mineral, e que após um determinado tempo essa lixiviação se mantém estável.

Estudos variando a temperatura de armazenamento das amostras de água mineral envasadas em PET também foram encontrados na literatura, em que foram observados para temperaturas acima de 60°C, um aumento significativo nas concentrações de Sb (KERESZTES et al., 2009; PAYÁN et al., 2017; TUKUR et al., 2012; WESTERHOFF et al., 2008). Carneado et al. (2015) observou que em temperatura acima de 40°C, houve um aumento de Sb nas amostras, sendo que em 60°C o teor de Sb nas amostras de água mineral, aumentou de 0,3-0,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 2,6-4,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e após 30 dias, todas as amostras excederam o limite estabelecido (5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Sendo observado que Sb é lixiviado a partir da embalagem, foi calculado a porcentagem de Sb lixiviado, em relação à concentração total de Sb encontrado na embalagem PET. Para 30 minutos de contato entre a amostra de água mineral e a embalagem PET, com aumento de temperatura de 18 a 80 °C, foi observado uma porcentagem de lixiviação de Sb na faixa de 0,0004 a 0,017 % em relação à concentração de Sb presente na embalagem (item 3.3.7.1.). Para 60 minutos de contato a porcentagem de lixiviação foi de 0,004 a 0,019 %. Embora as porcentagens de recuperação sejam baixas, isso gera uma preocupação devido as altas concentrações de Sb presente nas embalagens PET, com relação à segurança alimentar. Visto que os estudos mostraram que Sb é lixiviado para a matriz e que diversos fatores podem contribuir para a migração deste elemento.

Além da concentração total de Sb, a distribuição das espécies nas amostras, durante 30 e 60 minutos de contato na faixa de temperatura estudada também foi avaliado e os resultados estão apresentados na Figura 3.27.

Figura 3.27. Distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) em água mineral em diferentes temperaturas (18 a 80°C), durante (a) 30 minutos e (b) 60 minutos



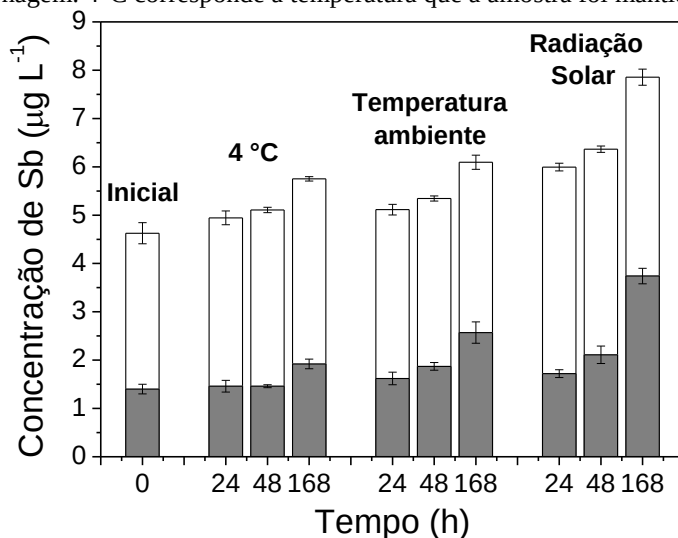
Fonte: A autora

A Figura 3.27 mostra a distribuição das espécies de Sb nas amostras de água mineral mantidas sob diferentes temperaturas (18 a 80°C) durante 30 e 60 minutos. A distribuição de Sb na amostra inicial de água mineral (18 °C) mostrou que Sb(VI) foi a espécie predominante, representando 56% da concentração total presente na amostra. Com o aumento da temperatura para 35°C, foi observada uma similaridade na distribuição das espécies em relação à concentração total de Sb na amostra. Nessa temperatura, a espécie predominante foi o Sb(V), representando uma média de 54 % do Sb total presente na amostra, para os tempos de 30 e 60 min. em que foi avaliado a presença de Sb. No entanto, a partir de 50°C foi observado uma variação na distribuição de Sb na amostra de água mineral, sendo verificado um aumento no percentual de Sb(III) para ambos os tempos avaliados. Dessa forma, na faixa de 50 a 80°C a espécie predominante foi o Sb(III), representando 57,5 a 66,3 % do Sb total presente nas amostras. Isso sugere, uma lixiviação de Sb a partir da garrafa PET para a água mineral, sendo mais pronunciado em amostras submetidas a altas temperaturas (acima de 50 °C).

Portanto, foi possível observar que a temperatura foi um fator importante, para o aumento da concentração de Sb nas amostras de água mineral. Assim, foi observado que a partir de 35°C as concentrações totais de Sb ultrapassam os limites adotados pela Anvisa para água envasada (5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$). Além disso, a partir de 50°C, o Sb(III), mais tóxico, é a espécie majoritária. Dessa forma, deve existir uma preocupação em relação a temperatura de armazenamento das amostras de água mineral, como forma de garantir a segurança alimentar.

Outro estudo realizado foi a avaliação do comportamento do Sb em amostras de água mineral em diferentes condições de armazenamento, tais como mantida a 4°C em geladeira, a temperatura ambiente ($19,9 \pm 2,2$ °C) e abrigo de luz e à exposição à radiação solar ($30,1 \pm 2,6$ °C). As temperaturas ambiente e de exposição solar foram medidas durante os 7 dias de estudo, sendo determinadas as temperaturas médias para o período. Essas condições foram avaliadas para amostras de mesmo lote do fabricante B durante 24 h, 48 h e 168 h (7 dias). Os resultados para o estudo estão apresentados na Figura 3.28.

Figura 3.28. Avaliação do teor de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) em água mineral em função das diferentes condições de armazenagem. 4°C corresponde a temperatura que a amostra foi mantida na geladeira



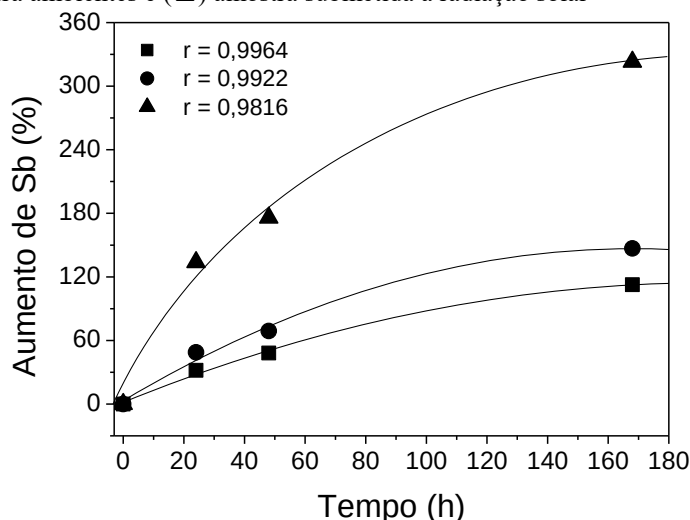
Fonte: A autora

A Figura 3.28 mostra a concentração de Sb determinada nas amostras de água mineral submetidas a diferentes condições de armazenamento (resfriamento em geladeira por 4°C, temperatura ambiente e radiação solar), durante os tempos de 24, 48 e 168 h. A concentração inicial da amostra antes do estudo foi determinada sendo de $4,6 \pm 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$, estando abaixo do limite estabelecido pela Anvisa para água envasada ($5,0 \mu\text{g L}^{-1}$). No entanto, é possível notar, de uma forma geral, um aumento das concentrações de Sb durante o período estudado, independentemente da forma de armazenamento que as amostras foram submetidas. Para a amostra mantida em geladeira (4°C) foi observado um aumento mais pronunciado de Sb apenas com 7 dias de estocagem dessa amostra, nessa temperatura. Sugere-se que a baixa temperatura, preserva a embalagem e as características da amostra, minimizando a lixiviação deste elemento para a matriz. Para as amostras mantidas em temperatura ambiente e sob radiação solar foi observado um aumento de Sb logo após 24 h de exposição. No entanto, para as amostras submetidas à radiação solar foi observado um aumento mais pronunciado da concentração de Sb. Com 48 h de exposição da amostra à radiação solar, o aumento de Sb nessa amostra ultrapassa o aumento observado na amostra de água mineral mantida à temperatura ambiente durante 7 dias. A maior lixiviação de Sb observada para a amostra submetida à exposição solar, pode estar relacionada com o aumento da temperatura. Como observado anteriormente, amostras mantidas sob condições de temperaturas elevadas apresentam maiores concentrações de Sb. Neste caso a temperatura da amostra aumenta devido à exposição solar. Além disso como citado anteriormente, a temperatura pode promover a degradação do PET, e mudança nas suas

características, bem como formação de produtos de degradação, como o CO₂ (FREIRE, REYES e CASTLE, 1998). Esses fatores podem estar contribuindo para o comportamento observado.

Assim foi construído um gráfico de aumento de Sb com o tempo, para cada uma das condições de armazenagem das amostras, o qual está apresentado na Figura 3.29.

Figura 3.29. Porcentagem de aumento do teor de Sb nas amostras avaliadas de acordo com o tempo, para cada condição de armazenamento estudada: (■) amostra mantida na geladeira (4°C), (●) amostra à temperatura ambiente e (▲) amostra submetida à radiação solar



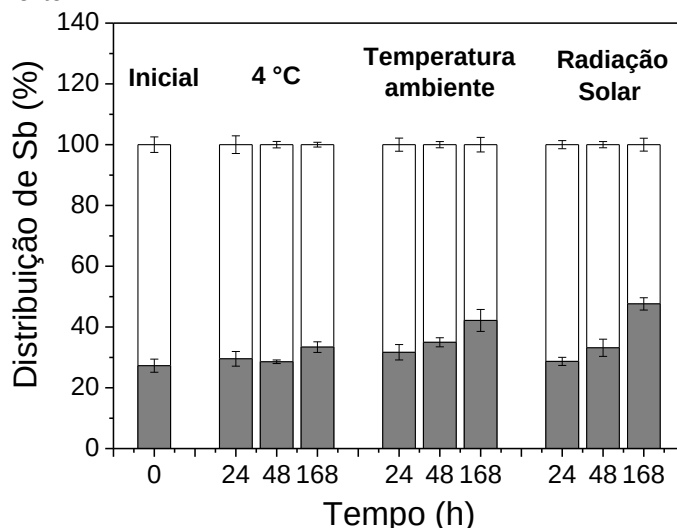
Fonte: A autora

A Figura 3.29 mostra o percentual de aumento de Sb para cada uma das condições avaliadas durante o período de estudo. Para as amostras mantidas sob resfriamento (4°C) foi possível observar um aumento de 32 a 113 % em relação à concentração de Sb inicial. Além disso, a partir de 48 h foi observado que a concentração de Sb na amostra ultrapassou o limite estabelecido pela Anvisa (5,0 µg L⁻¹). Para as amostras armazenadas sob condições ambiente é possível verificar que os teores de Sb total apresentaram um aumento de 48 a 147% durante o período avaliado. Para as amostras mantidas sob condições mais extremas, aliando aumento de temperatura e exposição à radiação solar, é possível notar um aumento mais significativo de Sb total, na faixa de 137 a 323 %. Esse fato corrobora a ideia de que condições mais extremas de temperatura e a presença de radiação solar favorecem o aumento da concentração de Sb, como comentado anteriormente. É possível observar ainda que o aumento de Sb verificado nas amostras em função do tempo foi polinomial para as 3 formas de armazenamento estudadas. Isso sugere que, as amostras recém envasadas apresentam um aumento de Sb total com um aumento do tempo. Porém, após um determinado período de estocagem dessas amostras, a lixiviação de Sb da embalagem PET para as amostras de água mineral pode se tornar estável.

Além disso, como Sb é lixiviado a partir da embalagem PET, foram calculados a porcentagem de lixiviação de Sb em relação a concentração de Sb presente na embalagem PET. Os resultados mostraram que para armazenamento da amostra de água mineral à 4 °C, no tempo de 24 a 168 h foi observado uma porcentagem de lixiviação de Sb na faixa de 0,003 a 0,012 % em relação à concentração de Sb presente na embalagem. Para armazenamento da amostra de água mineral à temperatura ambiente a porcentagem de lixiviação foi de 0,005 a 0,015 %. Para a amostra de água mineral mantida sob presença de radiação solar a porcentagem de lixiviação foi de 0,014 a 0,034 %. As porcentagens de lixiviação foram baixas. No entanto, existe uma preocupação devido as altas concentrações de Sb presente nas embalagens PET, com relação à segurança alimentar, visto que o consumo desta bebida, pode ser diária. Os estudos realizados mostraram que Sb é lixiviado para a matriz e que diversos fatores podem contribuir para a migração deste elemento.

Além da concentração total de Sb foi avaliada ainda a especiação de Sb nas amostras de água mineral submetidas à diferentes condições de armazenagem. A Figura 3.30 mostra os resultados percentuais para especiação de Sb, durante o período de estudo.

Figura 3.30. Distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) em água mineral sob diferentes condições de armazenagem



Fonte: A autora

Com relação à especiação (Figura 3.30), foi possível verificar que para a amostra mantida sob refrigeração (4°C), a fração majoritária durante todo o período de estudo foi Sb(V) que variou entre 66,6 a 71,4 % do teor total. Enquanto que a fração do Sb(III) variou entre 28,3 a 33,4 % em relação ao teor total. Para as amostras mantidas a temperatura ambiente, o Sb(V) foi a forma predominante em todo o período estudado, variando entre 57,8 a 68,3% em relação

ao total. Enquanto que o Sb(III) variou de 31,7 a 42,2 %. Comportamento similar foi observado também para as amostras mantidas na presença de luz solar e maior temperatura. Nesta condição foram observados aumentos de Sb na faixa de 52,4 a 71,3 % e de 28,7 a 47,6 % para Sb(V) e Sb(III), respectivamente. De uma forma geral foi observado um aumento na porcentagem de espécie de Sb(III) na amostras com aumento de tempo. No entanto, para ambas as condições avaliadas o Sb(V) permaneceu como espécie predominante.

Assim, estes estudos mostram a importância e uma preocupação com relação à forma de estocagem e temperatura de envase das amostras de água mineral, visto que as mesmas são consumidas mundialmente. Além disso, estes fatores podem influenciar na qualidade da água mineral para consumo humano, bem como na saúde humana, considerando a potencial toxicidade apresentada pelo Sb. Dessa forma, torna-se mais seguro manter a água mineral em geladeira, para consumo e evitar exposição à radiação solar.

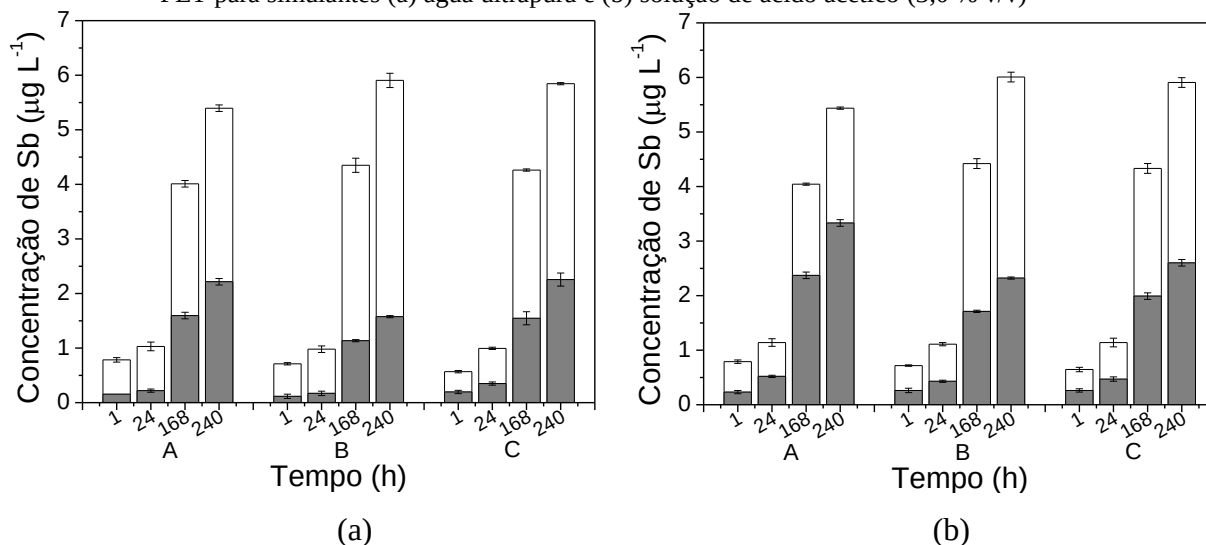
Além dos estudos de tempo, temperatura e condições de estocagem (geladeira e radiação solar) um estudo de migração de Sb partir da embalagem PET foi realizado com uso de simulantes. Esse estudo foi realizado, visando estudar a presença e distribuição da espécie de Sb em simulantes alimentícios e bebidas, tais como a água e o ácido acético.

3.3.7.5 Estudo da migração específica de Sb a partir da embalagem PET usada no envase de água mineral empregando simulantes

Como descrito nos estudos anteriores, foi observado que o Sb poder ser lixiviado a partir da garrafa PET para a água mineral. Como os estudos anteriores utilizaram a água mineral para os ensaios de lixiviação, o estudo com simulantes permite cobrir o máximo possível os diferentes tipos de alimentos vendidos comercialmente em embalagens de PET (Sánchez-Martínez et al., 2013). Assim, estudos de migração de Sb a partir da garrafa PET para a água mineral foram realizados usando como simulantes, a água ultrapura e uma solução de ácido acético (3,0 %, v/v). A escolha desses simulantes estão condicionadas à similaridade com a matriz da amostra. Dessa forma, a água ultrapura foi usada como simulante para amostras de água mineral e o ácido acético foi usado como simulante, considerando que amostras de água mineral, tais como as amostras carbonatadas apresentam valor de pH mais baixo. O estudo de migração com simulantes vem sendo descrito pelo Regulamento 10/2011 publicado no Jornal Oficial da União Européia, do inglês *Official Journal of the European Union* (UE, 2011).

Os resultados para as concentrações de Sb obtidas nas amostras de água ultrapura e ácido acético de acordo com o tempo de contato estão apresentadas na Figura 3.31.

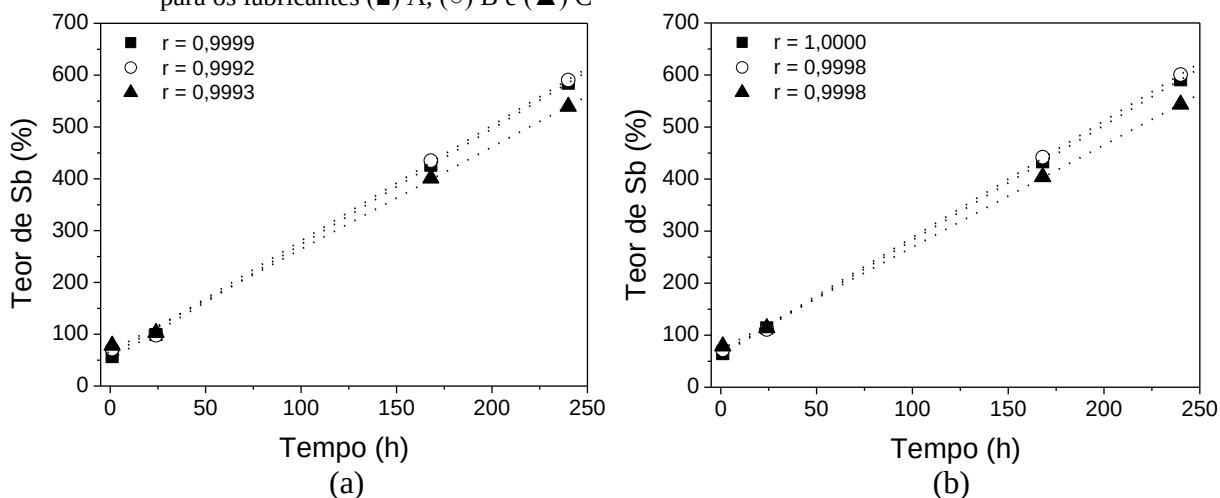
Figura 3.31. Concentração das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) no estudo de migração de Sb a partir da garrafa PET para simulantes (a) água ultrapura e (b) solução de ácido acético (3,0 % v/v)



Fonte: A autora

A Figura 3.31 mostra os resultados para estudo de migração de Sb a partir do PET para os simulantes de água ultrapura (UP) e solução de ácido acético (HAc). Os resultados mostraram que no período de 1 a 24 h de contato com os simulantes, concentrações de Sb na faixa de $0,57 \pm 0,02$ a $1,03 \pm 0,08 \mu\text{g L}^{-1}$ para água UP e de $0,65 \pm 0,04$ a $1,14 \pm 0,08 \mu\text{g L}^{-1}$ para HAc foram obtidas. As concentrações de Sb para os diferentes simulantes foram avaliadas por um *teste-t pareado*, visando verificar se os resultados diferiam entre os simulantes. Pela aplicação do *teste-t pareado* foi observado que existe diferenças significativas entre as concentrações de Sb determinadas em água ultrapura e ácido acético ($t_{\text{calculado}} = 10,46$, $p < 0,05$). As concentrações determinadas em ácido acético foram um pouco superiores. No estudo, foi observado ainda que a concentração total de Sb aumentou significativamente após 168 h (7 dias) tanto para água UP (Figura 3.31a) com valores na faixa de 4,01 a $5,85 \mu\text{g L}^{-1}$, quanto para solução de HAc (Figura 3.31b) na faixa de 4,04 a $6,01 \mu\text{g L}^{-1}$. Assim, observa-se que até 7 dias de contato, os teores de Sb encontram-se dentro do limite estabelecido pela Anvisa ($5,0 \mu\text{g L}^{-1}$) e U.S EPA ($6,0 \mu\text{g L}^{-1}$). No entanto, quando as embalagens ficam sob contato com os simulantes por 10 dias, as concentrações de Sb ultrapassam o limite estabelecido pela Anvisa ($5,0 \mu\text{g L}^{-1}$). Assim, os valores de aumento percentual de Sb com o tempo de contato foram determinados e estão apresentados na Figura 3.32.

Figura 3.32. Teor percentual de aumento de Sb em (a) água ultrapura e (b) solução de ácido acético (3,0 %, v/v), para os fabricantes (■) A, (○) B e (▲) C



Fonte: A autora

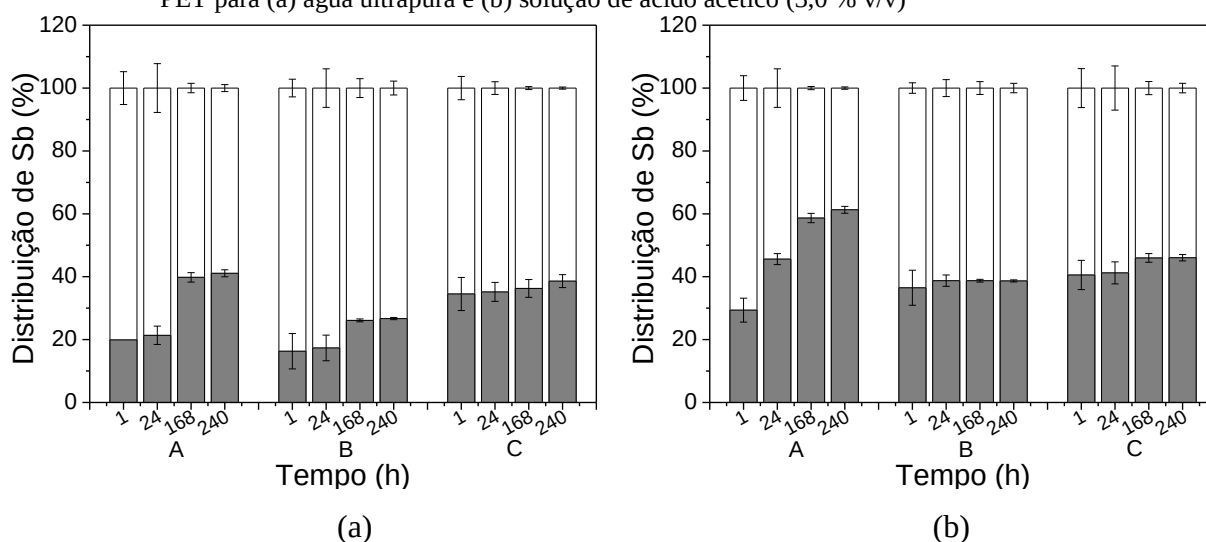
A Figura 3.32 mostra os valores de aumento percentual de Sb com o tempo de contato. Após 1 h de contato nota-se um aumento da concentração de Sb para os 03 fabricantes avaliados na faixa de 56,8 a 78,4 % e de 64,6 a 79 % para água UP (Figura 3.32a) e HAc (Figura 3.32b), respectivamente. Após 24 h de contato, o aumento de Sb total foi de 98,0 a 103,0 % e de 111,0 a 114,0 % para água UP e HAc, respectivamente. Após manter as embalagens em contato com água UP e HAc por 168h foi observado um aumento variando de 401 a 435 % e 404,3 a 442 %, respectivamente. Ao fim desse estudo, com 10 dias (240 h) de contato das embalagens com os simulantes, as concentrações de Sb aumentaram na faixa de 539,5 a 590,5 % e de 543,7 a 600,7 % para água UP e HAc, respectivamente. O simulante HAc apresentou um percentual superior para todas as amostras, no entanto, os valores entre os simulantes foram muito próximos, sendo essa diferença entre os simulantes não significativas. De um modo geral, foi observado que ocorre um aumento significativo de Sb em ambos os simulantes, apresentando um comportamento linear em todas as amostras avaliadas.

Assim, a porcentagem de lixiviação em relação à concentração de Sb na garrafa PET foi determinada. Para o fabricante A foram obtidos os valores para lixiviação de Sb em função do tempo na faixa de 0,006 a 0,044% e 0,006 a 0,045% em água UP e HAc, respectivamente. Para o fabricante B foram obtidos os valores para lixiviação de Sb em função do tempo na faixa de 0,014 a 0,115% e 0,014 a 0,117% em água UP e HAc, respectivamente. Para o fabricante C foram obtidos os valores para lixiviação de Sb em função do tempo na faixa de 0,009 a 0,097% e 0,011 a 0,098% em água UP e HAc, respectivamente. Avaliando-se o percentual de lixiviação de Sb em relação a concentração de Sb presente na embalagem, foi observado de forma geral que o percentual de lixiviação foi baixo, no entanto, a amostra B foi a que apresentou uma

lixiviação de Sb um pouco superior. Sugere-se que este fato esteja relacionado com o tipo de embalagem da amostra. O fabricante B apresenta uma embalagem mais maleável e composta por 30% do PET a base de planta. Estes fatores poderiam vir a influenciar no percentual de Sb lixiviado para o simulante.

Além das concentrações totais, a especiação para foi realizada para Sb(III) e Sb(V) para o estudo de migração de Sb em água UP e HAc, como uma forma de compreender a distribuição das espécies durante o período de estudo de lixiviação. Os resultados são apresentados na Figura 3.33.

Figura 3.33. Distribuição das espécies de (■) Sb(III) e (□) Sb(V) no estudo de migração de Sb a partir da garrafa PET para (a) água ultrapura e (b) solução de ácido acético (3,0 % v/v)



Fonte: A autora

A Figura 3.33 mostra a distribuição das espécies de Sb(III) e Sb(V) em água UP e HAc. Como pode-se observar na Figura 3.33a, a distribuição das espécies para o estudo de lixiviação em água UP, apresentou maior variação com o tempo para o fabricante A. Para este fabricante nota-se que até 24 h de contato da embalagem com água UP, a espécie de Sb(III) representou um percentual médio de $21 \pm 1,03$ % do total de Sb presente. No entanto, após 7 e 10 dias de contato o percentual de Sb na água UP apresentou um aumento médio de $40,4 \pm 0,90$ %. Para o fabricante B foi observado um aumento de Sb em água UP de 16,3 a 26,5 % durante o período de estudo (1 a 240 h). Para a amostra C foi observada a menor diferença entre os tempos estudados, sendo observada uma variação de 34,5 a 38,6 % de Sb(III) na amostra de água UP. De uma forma geral, para migração das espécies de Sb para água UP foi observada como espécie predominante o Sb(V), representando 58,9 a 83,7 % do Sb que migrou a partir da garrafa PET para a água UP, durante o período estudado (1 a 240 h).

Na Figura 3.33b, é possível observar de forma similar, que a amostra A apresentou os maiores teores de Sb(III), se comparada às demais amostras. Para esse fabricante verificou-se que em 1 h de contato da solução de HAc com a embalagem PET, a amostra apresentou percentual de Sb(III) de 29,4 % e com 24 h de contato, o percentual de Sb(III) aumentou para 45,6 %. No entanto, no período de 168 h a 240 h de contato com o simulante, o percentual médio de Sb(III) foi de $59,98 \pm 8,39$ %, sendo esta a espécie predominante após 168 h de contato. Sugere-se que esse comportamento pode estar associado com o pH da solução de HAc, visto que a mesma apresenta um valor de pH menor e é conhecido que valores mais baixos de pH contribuem para a lixiviação de Sb a partir da garrafa PET para água mineral. Além disso, essa amostra apresenta uma coloração mais escura, se comparada às demais amostras avaliadas nesse estudo de migração, fato este, que pode influenciar ainda na obtenção desses resultados. Para o fabricante B foi observado um teor de Sb(III) médio de $38,16 \pm 1,11$ % para o período avaliado (1 a 240 h). Este valor médio foi 1,8 vezes maior que o obtido em água UP, reforçando a influência do pH na migração de Sb a partir da garrafa PET para a solução em contato. Para o fabricante C, no período de 1 a 240 h, o percentual de Sb(III) médio foi de $43,45 \pm 2,97$ %, sendo este valor superior, mas próximo ao valor médio obtido para Sb(III) em água UP ($36,14 \pm 1,79$ %). Assim, de uma forma geral, a amostra A apresentou maior variabilidade na especiação de Sb(III) dependendo do simulante, enquanto que para as amostras B e C, o Sb(V) foi a espécie predominante para ambos os simulantes.

Portanto, este estudo de migração de Sb a partir da garrafa PET para os simulantes utilizados, demonstrou que Sb é lixiviado a partir da garrafa PET, tanto para água ultrapura quanto solução de ácido acético. Nesse estudo verificou-se que até 600,7 % de Sb foi lixiviado no período estudado e que soluções em menor pH, no caso, o simulante HAc promovem uma migração mais efetiva do Sb a partir da embalagem. Esses fatores corroboram, o que já vem sendo descrito na literatura.

3.3.8 Estimativa de ingestão diária crônica de Sb

Considerando que a água mineral é uma bebida consumida mundialmente e apresenta uma composição variada em termos de elementos essenciais e elementos-traço, é importante conhecer a taxa de ingestão diária crônica (IDC) pelo ser humano, como uma forma ainda de garantir a segurança e qualidade de vida. A IDC foi calculada segundo a Equação 3.4 (Fan et. al., 2014):

$$IDC = (C \times ID)/MC \quad (3.4)$$

Em que: C é a concentração de Sb na água mineral (ng L^{-1}), ID é a ingestão diária de água (L) e MC é a massa corpórea de uma pessoa.

Considerando um consumo diário de 2,0 L de água mineral por um adulto de 70 kg de peso corpóreo foi possível calcular o IDC em ng de Sb por kg de peso corpóreo por dia, para todas as amostras de água mineral. Os resultados para a taxa de ingestão média e intervalo para todas as amostras, estão apresentados a Tabela 3.11.

Tabela 3.11. Taxa de ingestão diária crônica (IDC) para consumo de Sb pelo ser humano

Indivíduo	Consumo de água (L)	Peso corpóreo (kg)	IDC média ($\text{ng kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$)	Faixa de IDC ($\text{ng kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$)
Adulto	2,0	70,0	124,4	58,7 – 246,3
Criança (5 anos)	1,0	17,0	256,2	120,9 – 507,2

Fonte: A autora

Como pode ser observado na Tabela 3.11, a ingestão diária crônica média de um adulto de 70,0 kg foi de $124,4 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ e de uma criança de 17,0 kg foi de $256,2 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Segundo a legislação da World Health Organization, dados toxicológicos sugerem para os seres humanos, uma ingestão diária crônica (IDC) para Sb de $6,0 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ($6000 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) (WHO, 2003; WELLE e FRANZ, 2011). Dessa forma, os valores encontrados no presente estudo para IDC médio e para a faixa de IDC para adultos e crianças, permanece abaixo do limite máximo de ingestão estabelecido pela WHO, indicando que as amostras de água avaliadas não apresentam risco à saúde humana, permitindo o consumo das mesmas sem efeitos deletérios. A U.S. EPA estabelece um índice de ingestão diária (IDC) por peso corpóreo de $400,0 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ (EPA, 1996). Considerando a legislação estabelecida pela EPA, é possível observar que os valores de IDC médio e a faixa de IDC para um indivíduo adulto está abaixo do limite estabelecido. Para a criança de 5 anos, o valor de IDC médio encontra-se dentro do limite adotado pela EPA. No entanto, em relação a faixa de IDC avaliada, observa-se que o maior valor de IDC ($507,2 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) ultrapassa o limite adotado pela EPA em 26,8%.

Supondo que 38% do Sb ingerido pelo ser humano provém da água, o IDC total de Sb pelo ser humano é calculado pela divisão do IDC por 38% (FAN et al., 2014). Assim, a IDC total média para um adulto é de $3,27 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ e para a criança de 5 anos é de $6,74 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Neste caso, os resultados sugerem que não existe risco à saúde humana para as amostras avaliadas, visto que os valores de IDC foram dentro do limite adotado.

Portanto, de uma forma geral, observa-se que as amostras de água mineral avaliadas apresentaram concentrações dentro dos limites estabelecidos pela legislação. Os resultados

permitiram avaliar e compreender a presença de Sb e o comportamento das espécies nas amostras de água mineral, fonte esta importante para sobrevivência dos seres vivos, e consumida mundialmente pelo ser humano. Além desse metaloide, outro elemento importante e que pode estar presente em ambientes aquáticos e águas minerais é o Cr. Assim, no capítulo seguinte será apresentado o desenvolvimento da metodologia de especiação de Cr por microextração por emulsificação assistida por ultrassom, bem como o estudo de especiação de Cr em amostras de água mineral e natural.

CAPÍTULO 4

ESPECIAÇÃO DE CROMO EM AMOSTRAS DE ÁGUA USANDO MICROEXTRAÇÃO POR EMULSIFICAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

4.1 INTRODUÇÃO

É conhecido que o comportamento e dinâmica de elemento traço, cromo, é dependente da sua especiação. A análise de especiação de cromo pode ser realizada com inúmeros procedimentos e metodologias. Uma das formas de especiação adotadas e relatadas na literatura é o emprego de uma técnica espectrométrica para a detecção de diferentes formas de cromo com um procedimento prévio de preparo de amostra, tais como extração por ponto nuvem e microextração líquido-líquido dispersiva.

A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) é uma das formas de separar e pré-concentrar de maneira seletiva as espécies de cromo. Inúmeros procedimentos são descritos na literatura (BAHADIR et al., 2016; MIOR, DUTRA e CARASEK, 2013; PORTO et al., 2017; SHIRKHANLOO, GHAZAGHI e MOUSAVI, 2016; VIDAL et al., 2016). Porém, esse procedimento vem sendo modificado para extração e pré-concentração de elementos como o Cr. Dentre as modificações possíveis são DLLME com líquidos iônicos (IL-DLLME), DLLME com solidificação de gota flutuante (DLLME-SFO), entre outras, além de DLLME assistido por ultrassom (US-DLLME) ou também conhecida como microextração por emulsificação assistida por ultrassom (USAEME) (CAMPILLO et al., 2016; MELLO et al., 2016).

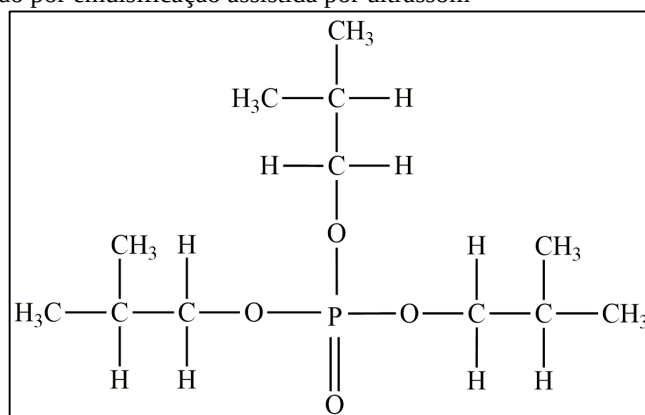
A microextração por emulsificação assistida por ultrassom do inglês *ultrasound-assisted emulsification microextraction* (UAEME) foi escolhida para a análise de especiação de Cr como técnica de extração e pré-concentração com a determinação por GF AAS. A UAEME é baseada no uso de um agente extrator específico para uma das espécies do analito de interesse. Esse agente extrator deve ser solúvel em fase orgânica e insolúvel em fase aquosa da amostra. Dessa forma, utiliza-se agitação ultrassônica para dispersão de moléculas de solvente extrator na amostra contendo o elemento de interesse, substituindo o uso de um agente dispersor. Esse procedimento, tem como vantagens o aumento da transferência de massa, melhor penetração do solvente durante a extração, menos uso de solvente, extração à baixas temperaturas, além de maior velocidade de extração (PICÓ, 2013).

O procedimento de UAEME foi empregado nesse estudo para extração e pré-concentração de Cr. A extração por UAEME compreende o uso do ultrassom para facilitar a

emulsificação entre as duas fases imiscíveis (amostra e agente extrator), eliminando o uso do agente dispersor. Dessa forma, nesta técnica, o ultrassom age de forma a acelerar a formação da solução turva do solvente extrator, caracterizada por uma emulsão. As bolhas geradas durante o processo de ultrassonificação, pelas ondas de cavitação, promovem a formação de pequenas gotas de solvente, extraindo o analito, neste caso Cr(VI) (CHEN et al., 2010; LEMOS et al., 2015; PICÓ, 2013; WANG et al., 2012). Em seguida ocorre a centrifugação, com a separação de duas fases, sendo uma em menor quantidade contendo o elemento de interesse que será analisado, e a outra em maior quantidade que é descartada (AL-SAIDI e EMARA et al., 2014; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013). A fase rica (orgânica) contendo o Cr(VI) é então utilizada para análise por GF AAS.

Assim, nesse trabalho o solvente extrator utilizado foi o tributilfosfato (TBP), pois este solvente é um bom extrator para Cr(VI), devido ao seu baixo custo, excelente estabilidade química, boa cinética de extração e baixa solubilidade na fase aquosa (ZHANG et al., 2007). A estrutura química do TBP é apresentada na Figura 4.1.

Figura 4.1. Estrutura química do tributilfosfato (TBP) utilizado na extração e pré-concentração de Cr por microextração por emulsificação assistida por ultrassom

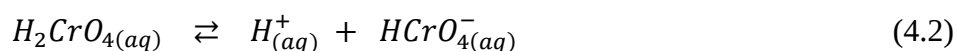
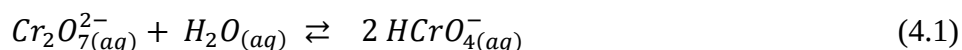


Fonte: Adaptado de Azizitorghabeh et al. (2016)

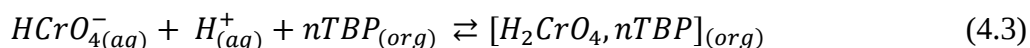
O TBP é um composto orgânico, com baixa solubilidade em água e amplamente utilizado na extração de íons metálicos, formando complexos hidrofóbicos estáveis. Assim, os complexos formados são solúveis em solventes orgânicos (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; OUEJHANI et al., 2003; VENKATESWARAN e PALANIVELU, 2005; ZHANG et al., 2007). Durante o processo de extração o TBP atua na extração do metal por solvatação, em que ocorre a substituição da camada de hidratação da espécie metálica neutra presente na fase aquosa (PEREIRA NETO et al., 2008). De acordo com a literatura, a extração de metais de vários

meios ácidos com TBP envolve, geralmente, duas moléculas de TBP que solvatam espécies neutras do metal (PEREIRA NETO et al., 2008).

Estudos da literatura mostram que o TBP é um agente extrator seletivo para espécies de cromo. O Cr(VI) forma complexo com o TPB enquanto que o Cr(III) não é extraído pelo TBP mesmo em altas concentrações, em meio aquoso. Assim, o TBP pode ser utilizado para especiação seletiva de Cr(VI), em condições ácidas (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013). Em condições ácidas, o Cr(VI) está presente como cromato de hidrogênio (HCrO_4^-) e dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) (pH entre 1,0 e 6,5), cuja reação de equilíbrio em meio aquoso está apresentada na equação 4.1 (MARKIEWICZ et al., 2015; OUEJHANI et al., 2003). Em condições mais ácidas (pH<1), o Cr(VI) ocorre como ácido crômico (H_2CrO_4) e a reação de dissociação em meio aquoso está representada na equação 4.2 (MARKIEWICZ et al., 2015; OUEJHANI et al., 2003).



Como comentado anteriormente a extração de Cr(III) ocorre em meio ácido. Assim, o íon H^+ participa efetivamente da extração deste elemento em presença de TBP, como mostra a equação de extração 4.3.

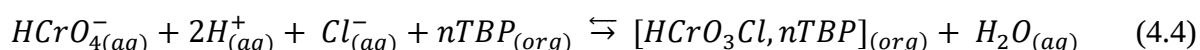


Na literatura é relado ainda que a eficiência de extração do Cr(VI) é aumentada quando a extração é realizada sob condições ácidas (baixo pH) e dependente da força iônica (presença de sal no meio) (MOREIRA et al., 2014). Isso ocorre porque os íons cloreto apresentam um importante efeito na extração de Cr(VI) pelo TBP em meio ácido, participando efetivamente na formação do complexo (OUEJHANI et al., 2003).

Assim, o HCl e o NaCl foram utilizados no procedimento de extração de Cr(VI), por UAEME, sendo a presença de ambos, HCl e NaCl, importantes na extração de Cr(VI) da amostra (KUMBASAR, 2010; MOREIRA, YOKAYA e DE GAITANI, 2014). Normalmente, nos procedimentos de extração são empregados sais com o intuito de elevar a força iônica. Assim, em trabalhos que descrevem a extração de espécies de cromo usando TBP, o NaCl é adicionado para facilitar o processo de extração (OUEJHANI et al., 2003; ZHANG et al., 2007). Isso porque pode ocorrer o efeito de *salting out*, em que o NaCl permite a diminuição da

solubilidade do elemento de interesse (Cr) na fase aquosa, facilitando a interação de Cr(VI) com o solvente extrator (TBP) e aumentando assim a transferência dessa espécie para a fase orgânica (KIM et al., 2016; MOREIRA, YOKAYA e DE GAITANI, 2014). Nesse efeito de *salting out*, as moléculas de água formarão esferas de hidratação ao redor das moléculas do sal dissociadas, diminuindo a concentração das moléculas de água no meio que estariam disponíveis para dissolução das espécies do analito. Além disso, a solubilidade do solvente extrator na amostra diminui, promovendo um aumento da fase rica (orgânica), que contém a espécie de interesse extraída (MOREIRA, YOKAYA e DE GAITANI, 2014). Dessa forma, a extração de Cr(VI) em meio de cloreto e ácido clorídrico é favorecida devido ao aumento do coeficiente de distribuição (OUEJHANI et al., 2003).

Assim, para que a extração seja eficiente o agente extrator deve ter baixa solubilidade em água e alto poder de extração (ANDRUCH et al., 2013). Dessa forma, a extração de Cr(VI) pelo TBP em presença de HCl e NaCl pode ser descrita pela Equação 4.4 em que n é um valor entre 2-3:



A Equação 4.3 mostra uma reação de extração proposta para o Cr(VI) em meio ácido, contendo NaCl e agente extrator (TBP) (OUEJHANI et al., 2003; SAHU et al., 2008). Como pode ser observado, o produto final formado é o $HCrO_3Cl$, $nTBP$.

Dessa forma, no presente capítulo será apresentada a metodologia de extração e pré-concentração de espécies de Cr por UAEME, com estudo de otimização por planejamento de superfície de resposta e validação em laboratório (*in-house*). O método foi desenvolvido para amostras de água, considerando que a água é amplamente utilizada, sendo uma fonte essencial para a vida humana. Além disso, Cr na forma de Cr(VI) apresenta potencial toxicidade e este elemento está presente no ambiente, bem como, em água mineral e natural, e assim, avaliar os teores desse elemento nessas matrizes é de suma importância, como forma de estimar a sua toxicidade e garantir a segurança dos seres vivos. Um estudo da presença e do comportamento de espécies de cromo em amostras de água mineral e natural foi realizado.

4.2 PARTE EXPERIMENTAL

4.2.1 Procedimento de Técnicas Limpas, Reagentes e Instrumentação

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico ou ultrapuros. Técnicas limpas visando minimizar as possíveis contaminações dos reagentes, das soluções e amostras foram utilizadas (DE ANDRADE et al., 2017; DOS ANJOS et al., 2017).

Para o preparo das amostras durante todo o estudo, foi utilizada água do tipo ultrapura (Milli-Q) (Milipore, SIMPAKKR1). Na análise de especiação de Cr foram utilizados solução padrão de Cr(VI) (1000 mg L^{-1}) (Sigma Aldrich), solução padrão de Cr(III) (1000 mg L^{-1}) (Biotec). A partir das soluções padrão de 1000 mg L^{-1} de Cr(VI) e Cr(III) foram preparadas diariamente soluções de trabalho. Outros reagentes utilizados foram o tributilfosfato (TBP) (Sigma Aldrich) como agente extrator e cloreto de sódio (NaCl) (Merck). Para a etapa de oxidação de Cr(III) à Cr(VI) foi utilizado permanganato de potássio - KMnO_4 (Synth). Para os estudos foram usados ainda ácido nítrico (HNO_3) (Carlo Erba), ácido clorídrico (HCl) (Sigma Aldrich) e metanol (J. T. Baker).

A quantificação de Cr nas amostras foi conduzida em um Espectrômetro de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (SpectrAA 240, Varian) acoplado a um corretor de fundo com efeito Zeeman. Foi utilizada uma lâmpada de cátodo-oco monoelementar de Cr ($\lambda = 357,9$; $i = 7 \text{ mA}$; tamanho de fenda = $0,2 \text{ nm}$) (Varian, Agilent). Para as análises foi utilizado um tubo de grafite revestido piroliticamente (Varian) e argônio (Ar) como gás de arraste.

A preparação das amostras foi realizada em um banho ultrassônico (Unique, model USC 2800A, 40 kHz). Outros equipamentos foram usados tais como uma centrífuga (80-2B Centrifuge), uma chapa de aquecimento (SPLabor), um potenciômetro Metrohm acoplado a um eletrodo de vidro combinado Ag/AgCl (model 827 pH Lab, Metrohm), uma estufa (Odontobras, modelo MOD – EL – 1,4), uma bomba à vácuo (Primatec, modelo 131).

4.2.2 Especiação de Cr empregando microextração por emulsificação assistida por ultrassom

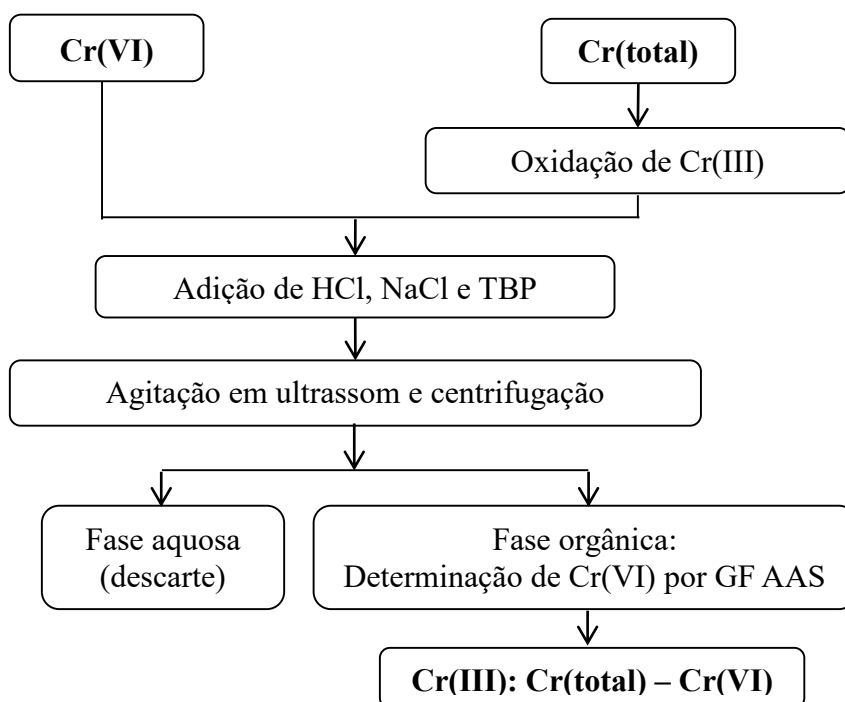
4.2.2.1 Procedimento Geral

No procedimento foram utilizadas alíquotas de $9,0 \text{ mL}$ da amostra de interesse ou solução padrão, na qual foi adicionado $1,0 \text{ mL}$ de HCl ($5,0 \text{ mol L}^{-1}$), $1,0 \text{ mL}$ de solução $300,0 \text{ g L}^{-1}$ de NaCl e $60,0 \text{ }\mu\text{L}$ de TBP. A solução de TBP foi adicionada na forma de injeção de micro-

gotas utilizando uma seringa. Após a adição, a mistura foi mantida sob agitação ultrassônica por 10 minutos. O tempo de extração em ultrassom foi previamente testado em um tempo menor (5 min) e maior (15 min), sendo que a partir de 10 minutos de contato não foi observada diferença na eficiência de extração de Cr. Além disso, durante a agitação ultrassônica, as amostras foram mantidas na região central do ultrassom para garantir uma extração homogênea entre as amostras. Após agitação em ultrassom, a mistura foi centrifugada a 2000 rpm por 5 minutos. Nessa etapa ocorre a separação das fases, uma fase orgânica contendo o Cr(VI) extraído pelo TBP, a qual é utilizada para a quantificação de Cr(VI) por GF AAS e uma fase aquosa que é descartada. A fase orgânica é diluída com uma solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 em metanol e $10,0 \text{ }\mu\text{L}$ desta solução foi diretamente injetada no tubo de grafite para determinação.

O procedimento para quantificação de Cr(total) é similar à quantificação de Cr(VI), mas há uma etapa prévia ao procedimento de UAEME, de oxidação de Cr(III) para Cr(VI) utilizando $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de KMnO_4 . A mistura foi mantida em contato por 10 minutos, sem agitação, antes da aplicação do método de UAEME. O teor de Cr(III) é obtido pelo cálculo da diferença entre as concentrações de Cr(total) e o Cr(VI). O procedimento geral para extração e pré-concentração de Cr está apresentado na Figura 4.2.

Figura 4.2. Fluxograma do procedimento de extração e pré-concentração por UAEME para especiação de Cr(III) e Cr(VI) empregando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite



Visando implantar o procedimento para especiação de Cr, o método de UAEME foi otimizado através dos fatores tais como, seletividade do TBP para extração de Cr(VI), pH, concentração do HCl e do NaCl, volume do agente extrator (TBP), agente oxidante para oxidação de Cr(III) para Cr(VI). Além disso, também foi estudada as condições de determinação de Cr utilizando GF AAS com a otimização do programa de aquecimento do forno de grafite e estudos de validação do método.

4.2.2.2 Avaliação do Programa de Aquecimento do Forno de Grafite na Determinação de Cr por GF AAS

A otimização do programa de aquecimento do forno de grafite foi realizada para análise da fase orgânica obtida na extração de Cr(VI) por UAEME. Para este estudo, as curvas de pirólise e atomização foram obtidas com o uso de uma solução de Cr(VI) ($15,0 \mu\text{g L}^{-1}$) submetida ao procedimento de UAEME. A fase orgânica final do UAEME foi diluída com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 em metanol (10,0 %, v/v) e introduzidas no tubo de grafite para determinação de Cr por GF AAS. Temperaturas de pirólise e atomização adequadas são necessárias para garantir a eliminação eficiente da matriz orgânica da amostra e permitir a quantificação sem perda do analito. Assim, a influência da temperatura de pirólise e atomização no sinal da absorbância e de fundo (Background - BG) de Cr(VI) e Cr(total) foi investigada de modo univariado. A temperatura de pirólise foi avaliada na faixa de 1000 a 1700 °C, com atomização fixa em 2600 °C. A temperatura de atomização foi estudada na faixa de 2400 a 2600 °C, com temperatura fixa de pirólise em 1100 °C.

4.2.2.3 Estudo da seletividade do TBP para extração de Cr(VI)

A seletividade do TBP na extração de Cr(VI) foi avaliada com soluções de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI) e $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III), separadamente. Para o estudo foi utilizado 9,0 mL da solução padrão de Cr, a qual foi submetida ao procedimento de UAEME utilizando os teores de HCl, NaCl e TBP segundo a literatura (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013). A fase orgânica obtida foi diluída com HNO_3 em metanol e então, 10 μL foram utilizados na quantificação de Cr por GF AAS. As soluções padrões para os ensaios foram preparadas em triplicata e as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.2.4 Avaliação da influência do pH na extração de Cr(VI) por UAEME

O efeito do pH na extração seletiva de Cr(VI) pelo procedimento de UAEME usando TBP como solvente extrator foi avaliado usando $5,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl (LÓPEZ-GARCÍA et al.,

2013). A faixa de pH avaliada foi de 0-1 até 4,0. Para o estudo, soluções padrão de Cr(VI) e Cr(III) de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ foram preparadas individualmente com 1,0 mL de solução de HCl ($5,0 \text{ mol L}^{-1}$) (pH = 0-1). Alíquotas destas soluções tiveram o valor de pH corrigido com solução de NaOH ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$, m/v) e posteriormente, foi aplicado o procedimento de UAEME. Este estudo foi realizado para solução padrão de Cr(VI) e Cr(III), em separado.

4.2.2.5 Otimização da concentração de HCl e NaCl e volume de TBP para a extração de Cr(VI) usando UAEME por Planejamento Composto Central Rotacional

Para extração de Cr pelo método de UAEME é importante conhecer o comportamento dos componentes usados durante o procedimento (HCl, NaCl e TBP). Estes componentes podem influenciar na resposta de modo conjunto, sendo necessário, portanto, a utilização de ferramentas multivariadas para avaliar os fatores e efeitos de interação. Primeiramente, um planejamento fatorial 2^3 foi contruído, com os fatores concentração de HCl e de NaCl e volume de TBP. Neste planejamento foi observado que o modelo apresentava curvatura. Dessa forma, um Planejamento Composto Central Rotacional (do inglês *Rotatable Central Composite Design* - RCCD) foi empregado para encontrar a região ótima de extração de Cr(VI). A aplicação desta técnica na otimização do método pode resultar na redução do número de experimentos realizados, bem como o tempo e custo da análise (YAO et al., 2017). Neste estudo, a concentração de HCl e NaCl e volume de TBP foram avaliados. Todos os resultados foram realizados de forma padronizada, visando minimizar os efeitos da variabilidade das respostas associada com erros sistemáticos. Os fatores e níveis do planejamento fatorial com superfície de resposta são apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Variáveis e níveis testados na RCCD para avaliação das condições de extração de Cr por UAEME

Variáveis	Níveis					
	Codificação	(- α)	(-)	(0)	(+)	(+ α)
Conc HCl (mol L^{-1})	x_1	0,031	0,15	0,5	0,325	6,19
Conc. NaCl (g L^{-1})	x_2	3,18	10,0	30,0	20,0	36,82
Volume de TBP (μL)	x_3	46,4	60,0	100,0	80,0	113,6

Fonte: A autora

A Tabela 4.1 mostra as variáveis (codificadas) e seus níveis, sendo (± 1) para pontos fatoriais, (0) para ponto central e ($\pm\alpha$) para os pontos axiais do planejamento. O planejamento foi realizado com base no planejamento RCCD de três fatores com seis pontos estrela ($\alpha = \sqrt{3} = 1,682$) e seis réplicas do ponto central. O modelo ajustado para os resultados do planejamento foi avaliado pela aplicação de um teste de falta de ajuste a 95 % de confiança e por valores de

R². Os resultados e superfícies de resposta foram analisados pelo software *Minitab for Windows version 16.2.2* (MINITAB, 2010).

4.2.2.6 Pré-concentração e Extração de Cr(total) após oxidação de Cr(III) para Cr(VI)

A determinação de Cr(total) foi realizada por oxidação de Cr(III) a Cr(VI), seguida pela extração por UAEME e determinação por GF AAS. A solução preparada continha 5,0 µg L⁻¹ de Cr(III). A solução contendo Cr(III) foi submetida à etapa prévia de oxidação usando permanganato de potássio - KMnO₄ (0,02 mol L⁻¹) com contato por 10 minutos, seguida pela aplicação do procedimento de UAEME e determinação por GF AAS. A análise da mesma solução foi realizada ainda por GF AAS sem etapa de oxidação e extração, de modo a avaliar a confiabilidade do método.

4.2.3 Estudo de Validação do Procedimento Utilizado na Especificação de Cr

Após finalizada a etapa de otimização das condições experimentais do procedimento proposto, um estudo de validação de laboratório (*in house*) foi realizado pela avaliação de parâmetros de mérito, tais como a linearidade, limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), fator de enriquecimento, precisão, seletividade por estudo de interferência de íons, e exatidão.

4.2.3.1 Calibração, linearidade e fator de enriquecimento

A calibração instrumental foi por padronização externa, na faixa de 0 a 15,0 µg L⁻¹ de Cr. Para o estudo, diferentes soluções foram preparadas para construção das curvas analíticas. Esse estudo foi realizado, de modo a investigar a interferência da matriz nas soluções aquosas de Cr após aplicação do procedimento de UAEME (curva pré-concentrada). Dessa forma, foram construídas curvas analíticas com soluções aquosas de Cr após aplicação do procedimento de UAEME (curva pré-concentrada), soluções aquosas de Cr e soluções aquosas de Cr contendo os mesmos reagentes usados na microextração, simulando as condições experimentais do procedimento de UAEME (Tabela 4.2). Todas curvas analíticas foram preparadas e analisadas em triplicata.

Tabela 4.2. Diferentes condições de preparo das curvas analíticas para determinação de Cr por GF AAS

Curva	Curvas analíticas usadas na calibração instrumental
1	Solução pré-concentrada de Cr(VI) (solução de 15,0 µg L ⁻¹ submetida ao procedimento de UAEME)
2	Solução padrão aquosa de Cr(VI) (15,0 µg L ⁻¹) sem procedimento de UAEME
3	Solução padrão aquosa de Cr(VI) (15,0 µg L ⁻¹) contendo 0,05 mol L ⁻¹ de HNO ₃ , 5,0 % (v/v) de metanol e 60,0 µL de TBP(sem procedimento de UAEME)

Fonte: A autora

A linearidade da curva analítica de interesse foi estudada pela aplicação de uma análise de regressão linear e teste de falta de ajuste para os dados experimentais em um nível de 95% de confiança (ARAUJO, 2009; BARROS NETO, SCARMÍNIO e BRUNS, 2006). A significância dos coeficientes da equação da curva analítica (coeficiente angular e linear) foram testados pela aplicação de um teste-t. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software estatístico *Minitab for Windows version 16.2.2* (MINITAB, 2010).

O fator de pré-concentração (FC) para quantificação de Cr(VI) e Cr(total) por UAEME foi calculado como uma razão entre a concentração da solução de Cr obtida após extração de Cr(VI) por UAEME (Cf) e a concentração da solução inicial contendo a espécie de Cr (Ci), como descrito na equação 4.4 (AL-SAIDI e EMARA, 2014; MOREIRA, YOKAYA e DE GAITANI, 2014).

$$FC = \frac{C_f}{C_i} \quad (4.4)$$

4.2.3.2 Limite de Detecção (LOD) e Quantificação (LOQ) para determinação de Cr por UAEME

Inicialmente foram realizadas 10 medidas do controle analítico (branco) por GF AAS. O branco para a determinação do Cr(VI) foi preparado com água do tipo Milli-Q, com adição de HCl, NaCl, TBP e diluente (HNO₃ em metanol), seguindo o procedimento de UAEME desenvolvido. Os valores de LOD e LOQ foram calculados baseados em $3 \times SD/m$ e $10 \times SD/m$, respectivamente, em que m é a inclinação da curva analítica submetida ao procedimento de UAEME para determinação de Cr(VI) e Cr(total) ou inclinação da curva aquosa para determinação de Cr(total) e SD é o desvio padrão de 10 medidas das soluções do branco (ARAUJO, 2009; ICH, 1996).

4.2.3.3 Precisão

A precisão do método para determinação de Cr(VI) por UAEME e determinação de Cr(total) por UAEME com etapa de oxidação foi avaliada pela repetitividade e precisão intermediária (AOAC, 2012; GONZÁLEZ, HERRADOR e ASUERO, 2010). O estudo de

precisão foi realizado em água mineral e água natural. Para avaliar a repetitividade do método para quantificação de Cr(VI), os teores desse elemento nas amostras de água mineral e natural foram determinados por GF AAS no mesmo dia, em triplicata, após aplicação do procedimento de UAEME (AOAC, 2012; GONZÁLEZ, HERRADOR e ASUERO, 2010). O estudo de precisão intermediário para determinação de Cr(VI) foi realizado durante cinco dias diferentes, como descrito para os testes de repetitividade. Para determinação de Cr(total) nas amostras de água mineral e natural, a repetitividade foi avaliada pela aplicação do procedimento de UAEME após etapa de oxidação usando KMnO_4 , em triplicata no mesmo dia. A precisão intermediária (entre dias) foi estudada de forma semelhante aos estudos de repetitividade, no entanto, durante cinco dias diferentes. Os resultados foram expressos como desvio padrão relativo (RSD) calculados a partir dos dados experimentais. Os valores Horrat foram também calculados, usando os resultados de uma análise de variância (ANOVA) característica do modelo hierárquico a 95% de confiança, como uma forma de verificar a confiabilidade das estimativas de precisão intermediária.

4.2.3.4 Estudo de interferência de íons

Para verificar a seletividade do processo de extração de Cr(VI) e a seletividade para determinação de Cr(total) foi realizado um estudo de interferência de íons que podem estar comumente presentes em amostras de água mineral e natural. Neste estudo foram preparadas soluções contendo $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada uma das espécies de Cr(VI), Cr(III), Sb(III), Sb(V), Ni(II), Fe(III), Zn(II), Cu(II), Pb(II) and Cd(II). As soluções foram submetidas ao procedimento de UAEME, e as concentrações de Cr foram determinadas por GF AAS. Os resultados foram expressos como percentual de recuperação para Cr(VI) e Cr(total).

4.2.3.5 Exatidão

A exatidão do método foi avaliada por meio de testes de recuperação, em triplicata, com amostra de água mineral (embalagem de politereftalato de etileno - PET), água de torneira e água natural em diferentes níveis de concentração ($20,0 \text{ ng L}^{-1}$ ($0,02 \mu\text{g L}^{-1}$), $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$) para cada espécie (Cr(VI) e Cr(III)). A amostra de água mineral (PET) foi adquirida em comércio local (Ponta Grossa, Paraná, Brasil). A amostra de água de torneira foi coletada no dia da análise, na Universidade Estadual de Ponta Grossa (Ponta Grossa, Paraná, Brasil). A amostra de água natural foi coletada na bacia do Rio das Pedras (localizada na cidade de Guarapuava, Paraná, Brasil), próximo à uma descarga de efluente de um curtume. Inicialmente os teores de Cr(VI) e Cr(total) foram determinados nas amostras por GF AAS, em triplicata,

após aplicação do método de UAEME para Cr. Posteriormente, foi realizada a fortificação das amostras em três níveis de concentração, aplicado o procedimento de UAEME, seguida pela determinação das concentrações de Cr(VI) e Cr(total) por GF AAS. Todas as análises foram realizadas em triplicata. As amostras de água natural foram filtradas com membrana de nitrato de celulose 0,45 µm e diluídas 20 vezes.

A exatidão para Cr(total) foi avaliada ainda, comparando-se os resultados de recuperação de Cr obtidos nas amostras após extração por UAEME, com os resultados de recuperação de Cr obtidos pelo método direto (sem pré-concentração), com determinação por GF AAS.

4.2.4 Especificação de Cr em amostras de água mineral Brasileiras engarrafadas em PET

A especificação de Cr foi conduzida em dez amostras de água mineral de diferentes marcas envasadas em embalagens PET obtidas no comércio de diferentes cidades do Paraná. As amostras foram escolhidas conforme data recente de envase e imediatamente analisadas. Após abertas, essas amostras foram mantidas em local ventilado e na ausência de luz. As análises foram realizadas em triplicata pelo método validado. A Tabela 4.3 mostra as informações referentes as amostras de água mineral utilizadas nesse estudo. As siglas utilizadas na identificação das amostras foram escolhidas para diferenciar as marcas usadas (letras) e lotes diferentes (numeração). A Figura 4.2 mostra as diferenças de coloração das embalagens das amostras.

Tabela 4.3. Informações das amostras de água mineral utilizadas na especificação de Cr por DLLME e determinação por GF AAS

Amostra	Tipo de embalagem	Coloração	pH	Volume (mL)*	Data de envase
A2	PET	Levemente azulado	5,84	510	04/2016
B1	30% de PET a base de planta	Incolor	8,66	500	04/2016
B2	30% de PET a base de planta	Incolor	8,66	500	04/2016
C1	PET	Azul claro translúcido	7,60	500	04/2016
C2	PET	Azul claro translúcido	7,60	500	04/2016
E1	PET	Incolor	9,75	510	05/2016
F1	PET	Incolor	7,50	500	05/2016
G1	PET	Azul escuro translúcido	7,20	510	05/2016
H1	PET	Incolor	9,45	500	04/2016
I1	PET	Azul escuro translúcido	6,70	510	04/2016

*Volume da garrafa de água mineral adquirida para análise

Fonte: A autora

Figura 4.3. Fotografia das embalagens PET das amostras de água mineral utilizadas na especiação de Cr



Fonte: A autora

4.2.5 Especiação de Cr em amostras de água superficial coletadas em diferentes regiões do Paraná

Um estudo de especiação de Cr utilizando o método de UAEME foi realizado ainda em dez amostras de água superficial, coletadas em diferentes cidades do Paraná. Das amostras estudadas, seis amostras foram coletadas na cidade de Guarapuava – PR, três amostras foram coletadas na cidade de Ponta Grossa – PR e uma amostra foi coletada na cidade de Santa Terezinha de Itaipu – PR. A escolha dos pontos amostrais deve-se ao fato desses locais urbanos ou rurais poderem apresentar influência da alguma atividade humana, visto que são águas usadas para abastecimento, lazer e ainda próximo a regiões agrícolas.

As amostras foram coletadas na superfície à aproximadamente 10,0 cm. Os frascos utilizados na coleta foram previamente descontaminados com solução de ácido nítrico (5,0%, v/v), lavados com água ultrapura, secos à temperatura ambiente e embalados em sacos plásticos individuais. Antes da coleta, os frascos foram primeiramente ambientados com a água superficial. Em seguida, os frascos contendo as amostras foram acondicionados em caixas de isopor contendo gelo para manter a refrigeração e conservação das amostras até a chegada no laboratório. As informações referentes às amostras (localização, população, local de coleta, cidade e data de coleta) estão apresentadas na Tabela 4.4.

Tabela 4.4. Informações referentes às amostras de água natural coletadas

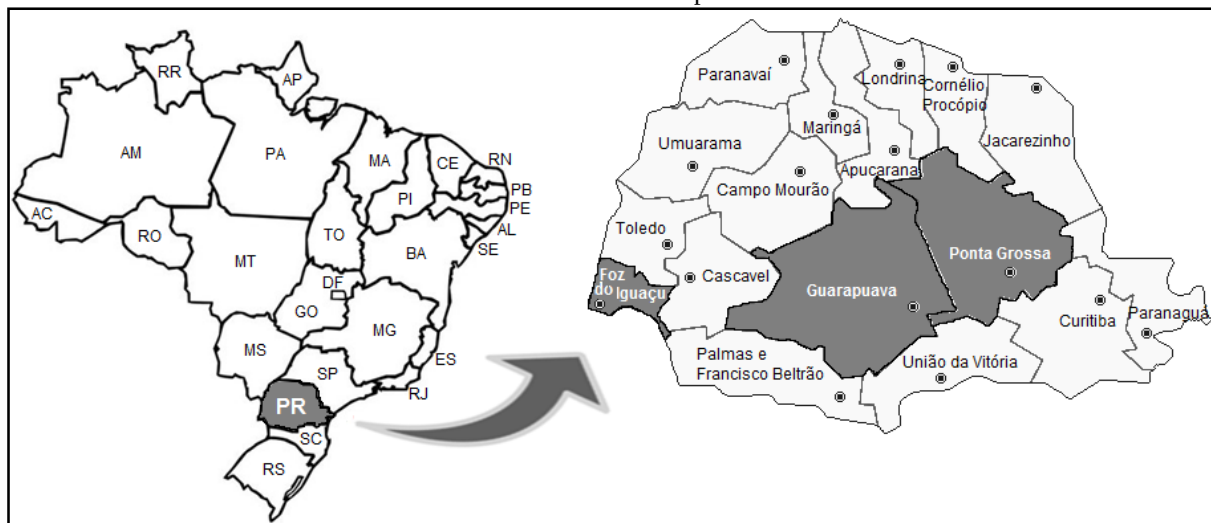
ID*	Localização	Local de coleta	População (habitantes)	Cidade de coleta	Data de coleta
R1	25°21'47.2" ao sul e 51°25'49.5" à oeste	Próximo à curtiembre desativado	180.364	Guarapuava - PR	Março/2017
R2A ^a	25°22'55.3" ao sul e 51°29'36.3" à oeste	População urbana	180.364	Guarapuava - PR	Março/2017
R2B ^a	25°22'55.3" ao sul e 51°29'36.3" à oeste	População urbana	180.364	Guarapuava - PR	Julho/2017
R3A ^b	25°26'28.1" ao sul e 51°27'18.3" à oeste	População urbana e praia artificial	180.364	Guarapuava - PR	Março/2017
R3B ^b	25°26'28.1" ao sul e 51°27'18.3" à oeste	População urbana e praia artificial	180.364	Guarapuava - PR	Julho/2017
R4	25°03'51.0" ao sul e 51°17'52.1" à oeste	População rural e praia artificial	180.364	Guarapuava - PR	Julho/2017
R5	25°05'02.2" ao sul e 50°05'52.4" à oeste	População urbana e praia artificial	344.332	Ponta Grossa - PR	Agosto/2017
R6	25°02'10.6" ao sul e 50°03'17.7" à oeste	População urbana e praia artificial	344.332	Ponta Grossa - PR	Agosto/2017
R7	25°03'52.5" ao sul e 50°05'39.1" à oeste	População urbana	344.332	Ponta Grossa - PR	Agosto/2017
R8	25°22'02.2" ao sul e 54°30'06.0" à oeste	Abastecimento de água e praia artificial	22.783	Santa Terezinha de Itaipu - PR	Agosto/2017

*Identificação das amostras; ^aamostras do mesmo local (R2), com duas coletas (A e B) em períodos diferentes; ^bamostras do mesmo local (R3), com duas coletas (A e B) em períodos diferentes

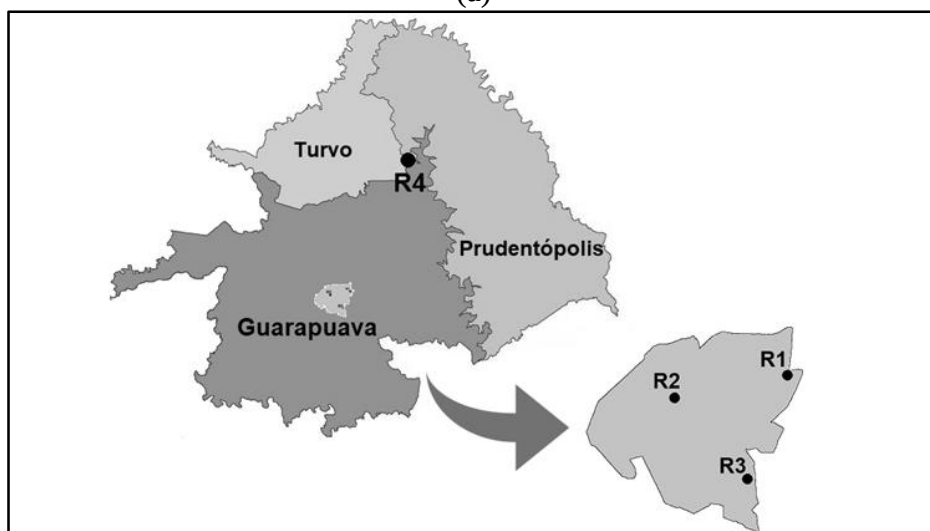
Fonte: A autora

As informações referentes os pontos de coleta nas cidades de Guarapuava, Ponta Grossa e Santa Terezinha de Itaipu, estão apresentados na Figura 4.4.

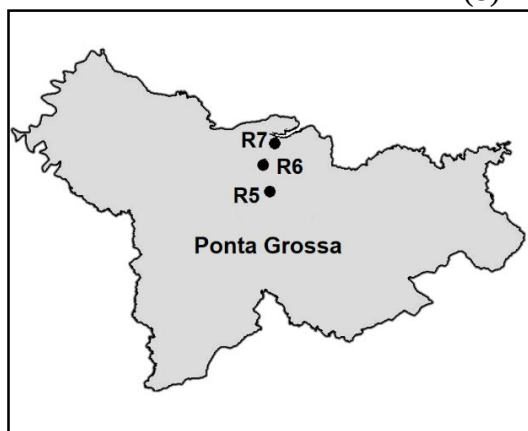
Figura 4.4. Representação dos locais de coleta das amostras de água natural. (a) Cidades dos locais de coleta (b) Locais de Coleta da Região de Guarapuava, (c) Locais de coleta na Região de Ponta Grossa e (d) Local de coleta na cidade de Santa Terezinha de Itaipu



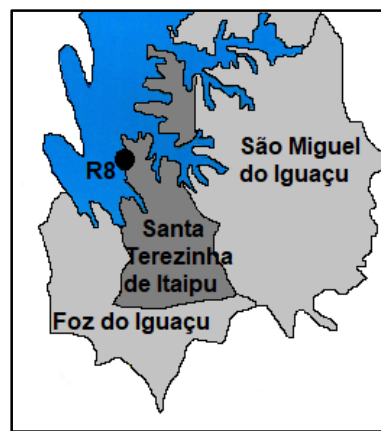
(a)



(b)



(c)



(d)

Fonte: Adaptado de D.maps (2017), Adapar (2017) e Rubinéia (2017)

Após a coleta das amostras foi realizada, em laboratório, a quantificação e especiação

de Cr pelo protocolo analítico otimizado e validado. Primeiramente, foi realizada a quantificação da concentração total de Cr nas amostras de água superficial. Uma alíquota da amostra *in natura* foi utilizada para determinação do Cr total presente na amostra de água natural por GF AAS, sem preparo da amostra e sem pré-concentração. Em seguida, uma fração da amostra coletada foi filtrada em membrana de nitrato de celulose com 0,45 μm de porosidade, sob pressão reduzida. Dessa fração, foi retirada uma alíquota para determinação da concentração total de Cr dissolvida, por GF AAS, sem pré-concentração. Ao fim, para quantificação e especiação de Cr por UAEME, uma alíquota da amostra filtrada foi diluída por um fator de 20 vezes com água ultrapura do tipo Milli-Q e então, submetida ao procedimento de UAEME para extração e pré-concentração de Cr, com determinação por GF AAS.

As amostras coletadas foram ainda caracterizadas, com relação à alguns fatores, tais como, o pH, o teor de íons cloreto, sólidos suspenso totais (SST) e teor de carbono orgânico dissolvido (COD).

O pH foi medido em uma alíquota das amostras *in natura* coletadas, utilizando um eletrodo de vidro combinado Ag/AgCl acoplado a um potenciômetro Metrohm.

O teor de cloreto dissolvido foi determinado pelo método 4500B, descrito no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1999), o qual consiste no método direto de precipitação de Mohr. Para o método foi utilizado uma solução de nitrato de prata (AgNO_3) ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e como indicador foi utilizado o cromato de potássio (K_2CrO_4) (5,0%, m/v).

O teor de sólidos suspensos totais (SST) foi determinado pelo método 2320B, descrito no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1999), no qual uma alíquota da amostra *in natura* de 100 mL foi filtrada, sob pressão reduzida, em membrana de vidro previamente pesada, sendo em seguida, levada a membrana contendo o material particulado à estufa na temperatura de 103-105 $^{\circ}\text{C}$, até massa constrante.

O teor de carbono orgânico dissolvido (COD) foi realizado em um equipamento analisador TOC (modelo TOC-L: Total Organic Carbon Analyzer, da marca Shimadzu), controlado por software TOC Control-V Shimadzu. O gás de arraste utilizado foi ar sintético (O_2 e N_2). O método de análise utilizado pelo analisador é o método direto. Este método consiste na quantificação do carbono orgânico não purgável/volátil (NPOC), relacionando-o com a concentração de TOC. Neste método são realizadas três etapas, sendo a acidificação com sparging (para remoção do carbono inorgânico da amostra), combustão catalítica a 680 $^{\circ}\text{C}$ (transformação do NPOC em CO_2 , possibilitando sua quantificação pelo detector) e a detecção da quantidade de NPOC presente e Carbono Inorgânico (IC). No método foram construídas

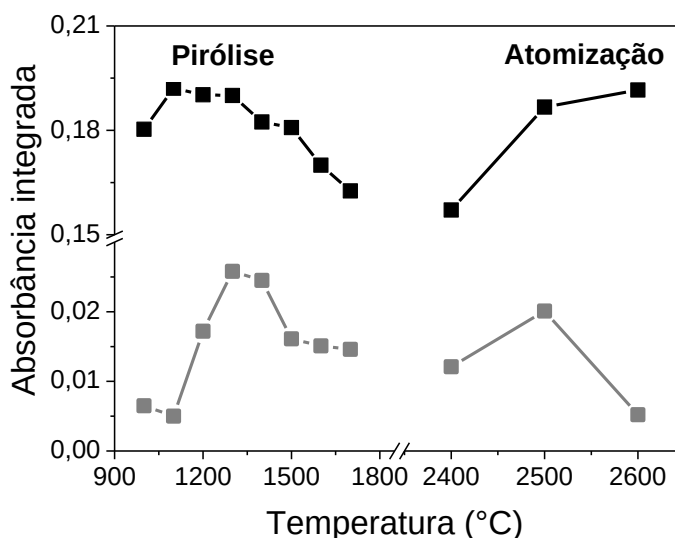
curvas analíticas na faixa de 0 a 50,0 mg L⁻¹ de biftalato de potássio (C₈H₅KO₄) ($R^2 = 0,9998$) para determinação de carbono total (CT) e com um padrão misto de carbonato e bicarbonato de sódio (Na₂CO₃ e NaHCO₃) ($R^2 = 0,9997$) para determinação de carbono inorgânico (CI).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Otimização do programa de aquecimento do forno de grafite

A extração e pré-concentração de Cr(VI) por UAEME usando TBP (agente extrator), em presença de HCl e NaCl, origina uma fase final orgânica contendo o Cr(VI) extraído e pré-concentrado, com uma viscosidade associada. Dessa forma, para quantificação de Cr é necessário realizar a diluição da fase orgânica obtida para diminuir a sua viscosidade e permitir a quantificação de Cr dentro da faixa da curva analítica empregada, sendo usado o HNO₃ em meio de metanol como diluente, como descrito para o Sb (DE ANDRADE et al., 2017). Assim, estudos foram utilizados para otimizar as condições do forno de grafite para determinação de Cr na fase rica diluída obtida por UAEME. Os resultados estão mostrados na Figura 4.5, sendo cada ponto representante do sinal médio obtido para três replicatas.

Figura 4.5. Resultados obtidos na otimização das etapas de pirólise e atomização do programa de aquecimento do forno de grafite para Cr usando GF AAS, sendo: (a) (—■—) Sinal atômico e (—■—) sinal de fundo (BG) para solução da fase orgânica obtida por UAEME contendo Cr (15,0 µg L⁻¹), TBP, HNO₃ e metanol



Fonte: A autora

A Figura 4.5 mostra os resultados de sinais analíticos de Cr (absorbância) obtidos para os ensaios de otimização das temperaturas de pirólise e atomização para a fase orgânica contendo Cr(VI) extraído por UAEME com diluição em ácido nítrico/metanol. Pode-se observar para o estudo da temperatura de pirólise, que o sinal atômico se manteve estável na faixa de temperatura de 1000 a 1500 °C, com um valor máximo de absorbância para 1100 °C. Isso sugere provavelmente uma maior eliminação da matéria orgânica nessa temperatura. Além

disso, com relação ao sinal de fundo nota-se um aumento do sinal (BG) para valores de temperatura acima de 1200 °C, sugerindo que pode ter sido acumulado resíduo de matéria orgânica no tubo de grafite. Acima de 1500 °C, é possível observar uma diminuição do sinal analítico, indicando provavelmente, nessa temperatura, tenha ocorrido perda do analito. Dessa forma, 1100 °C foi escolhida como temperatura de pirólise ótima para a determinação de Cr na fase obtida por UAEME após diluição sem perda de sinal. O baixo valor de sinal de BG indica que a eliminação completa da matriz orgânica e a ausência de resíduos no atomizador.

A Figura 4.5 apresenta ainda o efeito da temperatura de atomização no sinal de Cr. Nota-se que acima de 2500 °C ocorre o aumento do sinal atômico. O sinal atômico máximo para Cr foi obtido na temperatura de 2600 °C, indicando que provavelmente ocorreu a atomização mais eficiente do Cr. Nesta temperatura foi obtido ainda o menor sinal de BG, devido a eliminação completa da matéria orgânica. Assim, a condição selecionada para atomização foi 2600 °C. As condições otimizadas para determinação de Cr por GF AAS estão mostradas na Tabela 4.5.

Tabela 4.5. Programa de aquecimento do forno de grafite otimizado para determinação de Cr após procedimento de UAEME e determinação por GF AAS

Etapa	T (°C)	Tempo (s)		Fluxo do gás (L min ⁻¹)	Leitura
		Rampa	Patamar		
Secagem 1	85	5	2	0.3	No
Secagem 2	95	40	1	0.3	No
Secagem 3	120	10	1	0.3	No
Pirólise	1100	8.0	6	0.3	No
Atomização	2600	2	4	0.0	Yes
Limpeza	2600	2	1	0.3	No

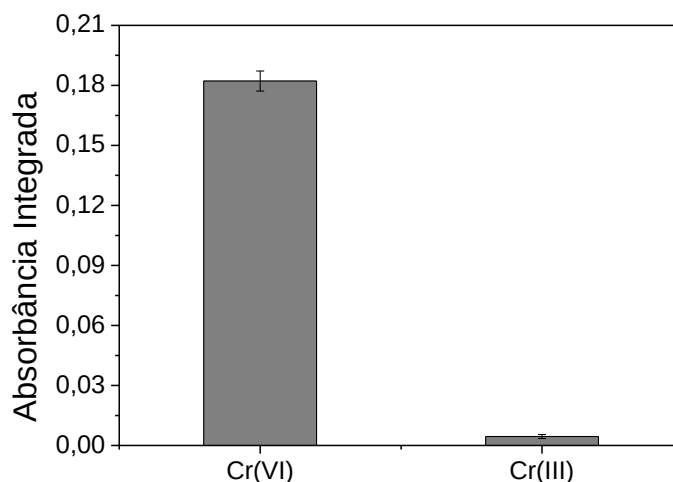
Fonte: A autora

As condições descritas na Tabela 4.5 são consistentes com a literatura. López-García, Vicente-Martínez e Hernández-Córdoba (2012) realizou a especiação de Cr por DLLME assistida por ultrassom em água mineral, natural e soluções lixiviadas de brinquedos plásticos. A determinação de Cr foi realizada por ET AAS, usando forno atomizador de grafite com aquecimento transversal. Os autores avaliaram as condições do forno e observaram a melhor absorbância de Cr utilizando temperaturas de pirólise e atomização de 1100 e 2400 °C, respectivamente. Chen et al. (2010) relataram a determinação de Cr(VI) por microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico assistida por ultrassom e determinação por ET AAS. As condições adotadas para otimização foram 1000 e 2300 °C para temperaturas de pirólise e atomização, respectivamente.

4.3.2 Seletividade do agente extrator usado na UAEME para extração de Cr(VI)

Para avaliar a extração seletiva de espécies de cromo por UAEME, foi conduzido um experimento que consistiu em avaliar a seletividade do solvente TBP para a extração de Cr(VI) e Cr(III), em soluções separadas. Assim, os resultados de absorbância de Cr para ambas as soluções foram obtidos e são mostrados na Figura 4.6.

Figura 4.6. Extração de espécies de cromo Cr(VI) e Cr(III) pelo método de UAEME usando TBP como agente extrator



Fonte: A autora

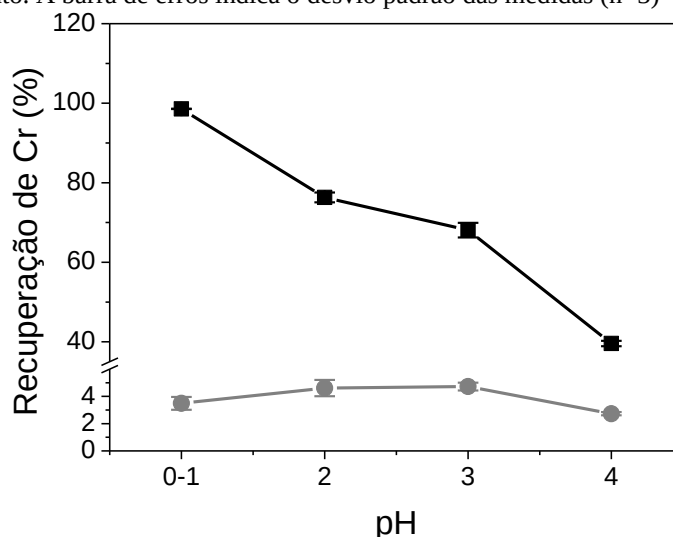
A Figura 4.6 mostra os valores de absorbância para as espécies de Cr(III) e Cr(VI) nas fases orgânicas obtidas após extração por UAEME e determinação por GF AAS. Os resultados mostraram que os valores de absorbância para as espécies de Cr(VI) e Cr(III) foram diferenciados significativamente. Fato este observado por um *teste-t* a 95% de confiança ($t_{calculado} = 60,46$, $p(0,000) > 0,05$). Como pode ser observado, o valor de absorbância para Cr(VI) foi de $0,182 \pm 0,005$, indicando que o TBP extraiu a espécie de Cr(VI). Enquanto que Cr(III) apresentou um baixo valor de absorbância ($0,004 \pm 0,001$). Dessa forma, é possível sugerir que o TBP atua de modo a extrair somente o Cr(VI) da amostra. Na literatura, trabalhos que utilizam o TBP como solvente extrator, mostram que esse solvente é seletivo para Cr(VI) (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; OUEJHANI et al., 2003).

Dessa forma, o método de UAEME se mostrou promissor para a extração e pré-concentração de Cr(VI) em amostras de água, e um estudo de otimização completo é importante de modo a obter uma condição adequada para uma extração eficiente de Cr(VI) por UAEME e implantação do método.

4.3.3 Estudo da influência do pH na extração de Cr por UAEME

O pH é um fator importante em métodos de extração de espécies metálicas, pois pode influenciar na forma que as espécies de Cr(III) e Cr(VI) apresentam em solução, bem como na extração das espécies pelo solvente extrator. Dessa forma, nesta etapa de otimização, o efeito do pH na extração de Cr(VI) e Cr(III) pelo procedimento de UAEME proposto foi estudado na faixa de pH ácido. Essa faixa de pH foi escolhida porque segundo relatos da literatura, uma extração mais efetiva de Cr é obtida em valores de pH ácidos (KUMBASAR, 2010; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; OUEJHANI et al., 2003; VENKATESWARAN e PALANIVELU, 2005; ZHANG et al., 2007). Além disso, em meio ácido com HCl e NaCl, a presença de íons cloreto, auxiliam na extração do Cr(VI) para formação do composto HCrO_3Cl , como descrito no item 4.1 deste capítulo (OUEJHANI et al., 2003). Na faixa de pH ácido, as formas predominantes de Cr(VI) são o íon hidrogeno cromato (HCrO_4^-) e o dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) na faixa de pH = 2 – 6. Em pH < 1, Cr(VI) existe como ácido crômico (H_2CrO_4), o qual dissocia-se, liberando íons H^+ que participam na extração de Cr(VI) (OUEJHANI et al., 2003). A Figura 4.7 mostra o efeito do pH nas recuperações de Cr(VI) e Cr(III) na fase orgânica.

Figura 4.7. Efeito do pH no percentual de recuperação de Cr(VI) representado em preto e Cr(III) representado em cinza em concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ em fase orgânica. As condições experimentais são descritas no procedimento. A barra de erros indica o desvio padrão das medidas (n=3)



Fonte: A autora

A Figura 4.7 mostra os valores de recuperação de Cr(III) e Cr(VI) na fase orgânica obtida, após extração por UAEME em diferentes valores de pH. Os resultados mostraram que o Cr(VI) foi extraído na faixa de pH avaliada. No entanto, foi observado que a diminuição da acidificação do meio (maior valor de pH) promove uma perda de eficiência na extração de

Cr(VI) pelo TBP. Este comportamento pode ser explicado devido à formação do complexo HCrO_3Cl , como mostrou a equação 4.3. Um diagrama de equilíbrio químico foi construído (Hydra, Medusa - dados não mostrados) e foi observado que este complexo formado ocorre principalmente na faixa de pH de 0 a 0,5.

Assim, a extração mais efetiva de Cr(VI) ocorreu pela adição de 1,0 mL de HCl. Na Figura 4.7 é também observado que na faixa de pH estudada (0-1 a 4,0), não ocorre extração significativa de Cr(III), permitindo a extração de Cr(VI) sem interferência. Dessa forma, com a realização deste estudo é possível comprovar a necessidade de um meio extremamente ácido para o processo de extração de Cr(VI) por UAEME. No entanto, este fator pode ser dependente ainda da concentração de NaCl e do volume de TBP. Dessa forma, um estudo multivariado foi realizado, de modo a avaliar a influência desses fatores na eficiência de extração de Cr, bem como, os efeitos de interação desses parâmetros.

4.3.4 Otimização da concentração de HCl e NaCl e volume de TBP para a extração de Cr(VI) usando UAEME por Planejamento Composto Central Rotacional

No estudo de pH, como teste inicial foi observado que altas recuperações de Cr foram obtidas em condições extremamente ácidas. Dessa forma, outros valores foram avaliados, tais como, a presença de HCl, NaCl e TBP no meio, fatores estes importantes para extração de espécies de Cr. O estudo destas variáveis é interessante, considerando que esses fatores podem apresentar efeitos de interação entre eles. Assim, a influência das concentrações de HCl e NaCl e volume de TBP na extração de Cr(VI) por UAEME foram avaliadas empregando um planejamento composto central rotacional (do inglês Rotatable Central Composite Design - RCCD). Esse planejamento é um planejamento comumente utilizado, em que são avaliados os pontos centrais com réplicas para estimar o erro padrão e os pontos axiais (pontos estrela), que permitem estimar os termos quadráticos.

Os resultados do planejamento utilizado no cálculo de fatores foram expressos como porcentagens de recuperação de Cr(VI) para cada experimento. O ponto central com replicatas ($n=6$) foi utilizado para estimar o erro nas medidas. Na Tabela 4.6 são mostrados os resultados para o RCCD para especiação de Cr.

Tabela 4.6. Matriz do planejamento de RCCD e porcentagem de recuperação encontrada para o Cr extraído pelo procedimento de UAEME

Experimento	Variável independentes codificadas			Variáveis independentes não codificadas			Recuperação de Cr (%)	
	x ₁	x ₂	x ₃	x ₁	x ₂	x ₃	Experimental**	Predito***
1	-	-	-	0,15	10,0	60,0	85,30	84,83
2	+	-	-	0,50	10,0	60,0	92,24	92,37
3	-	+	-	0,15	30,0	60,0	91,92	90,57
4	+	+	-	0,50	30,0	60,0	99,97	99,88
5	-	-	+	0,15	10,0	100,0	76,60	75,42
6	+	-	+	0,50	10,0	100,0	77,96	78,04
7	-	+	+	0,15	30,0	100,0	76,23	74,83
8	+	+	+	0,50	30,0	100,0	80,02	79,22
9	-α*	0	0	0,031	20,0	80,0	77,33	79,32
10	+α*	0	0	0,619	20,0	80,0	89,57	89,34
11	0	-α*	0	0,325	3,18	80,0	82,49	82,74
12	0	+α*	0	0,325	36,82	80,0	87,00	88,56
13	0	0	-α*	0,325	20,0	46,4	93,32	93,74
14	0	0	+α*	0,325	20,0	113,6	67,14	68,48
15 ^a	0	0	0	0,325	20,0	80,0	72,97±0,84	72,38
16 ^a	0	0	0	0,325	20,0	80,0	72,92±0,84	72,38
17 ^a	0	0	0	0,325	20,0	80,0	72,31±0,84	72,38
18 ^a	0	0	0	0,325	20,0	80,0	71,04±0,84	72,38
19 ^a	0	0	0	0,325	20,0	80,0	73,21±0,84	72,38
20 ^a	0	0	0	0,325	20,0	80,0	73,09±0,84	72,38

x₁ = Conc. HCl (mol L⁻¹); x₂ = Conc. NaCl (g L⁻¹); x₃ = volume de TBP (μL); * α = 1.682; ** Valores de recuperação de Cr obtidos experimentalmente; ***Valores de recuperação preditos obtidos a partir do modelo de RCCD proposto;

^a Ponto Central.

Fonte: A autora

O planejamento compósito central rotacional (RCCD) (Tabela 4.6) foi construído com os pontos fatoriais (2^k), pontos axiais ($2k$) e pontos centrais (n_c), e os resultados obtidos para cada experimento. O número de experimentos (N) foi igual à equação 4.5:

$$N = 2^k + 2k + n_c \quad (4.5)$$

Em que: k é o número de fatores ($k = 3$) e n_c é o número de replicatas do ponto central ($n_c = 6$). Pontos axial adicionais, localizados a distância de $\alpha = [2^k]^{1/4}$ permite a rotatabilidade e variância constante para todos os pontos equidistantes do ponto central.

Com os resultados obtidos (Tabela 4.6) foi realizada uma análise de variância (ANOVA) para o modelo de superfície de resposta quadrático ajustado, permitindo encontrar a equação de regressão polinomial de segunda ordem para predizer a respostas das variáveis pela RCCD, como descrito na equação 4.6.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \varepsilon \quad (4.6)$$

Em que: Y é a resposta predita (recuperação de Cr(VI) (%)); β_0 é a constante; β_i é o coeficiente linear; β_{ij} é o coeficiente de produto cruzado (interação); e β_{ii} é o coeficiente quadrático. Os parâmetros x_i e x_j são variáveis independentes para cada experimento; ε é o erro; x_1 é a

concentração de HCl (mol L^{-1}); x_2 é a concentração de NaCl (g L^{-1}); x_3 é o volume de TBP (μL). O resultado para a ANOVA e coeficientes de regressão são apresentados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7. Análise de variância (ANOVA) para o modelo quadrático de superfície de resposta para extração de Cr(VI) por UAEME

Fonte	gl ^a	SQ ^b	QM ^c	Valor de F	Valor de p	CRE ^d	Efeitos $\pm$ Erro padrão	Valor de p
<i>Regressão</i>	9	1568,46	174,273	95,83	0,000			
<i>Linear</i>	3	934,15	311,383	171,22	0,000			
A - Conc. HCl (mol L^{-1})	1	121,51	121,510	66,81	0,000	-49,7546	$2,98 \pm 0,36$	0,000
B - Conc. NaCl (g L^{-1})	1	40,91	40,912	22,50	0,001	-1,15143	$1,73 \pm 0,36$	0,001
C - TBP volume (μL)	1	771,73	771,728	424,34	0,000	-1,34063	$-7,52 \pm 0,36$	0,000
<i>Interação</i>	3	33,77	11,255	6,19	0,012			
AB	1	1,57	1,565	0,86	0,375	0,252771	$0,44 \pm 0,48$	0,375
AC	1	12,11	12,107	6,66	0,027	-0,351486	$-1,23 \pm 0,48$	0,027
BC	1	20,09	20,093	11,05	0,008	-0,007924	$-1,58 \pm 0,48$	0,008
<i>Quadrático</i>	3	600,55	200,182	110,07	0,000			
A ²	1	182,94	258,338	142,05	0,000	138,250	$4,23 \pm 0,36$	0,000
B ²	1	279,67	317,088	174,35	0,000	0,0469071	$4,69 \pm 0,36$	0,000
C ²	1	137,93	137,931	75,84	0,000	0,00773428	$3,09 \pm 0,36$	0,000
<i>Erro residual</i>	10	18,19	1,819					
<i>Falta de ajuste</i>	5	14,64	2,929	4,13	0,073			
<i>Erro puro</i>	5	3,54	0,708					
<i>Total</i>	19	1586,65						
<i>Principal</i>						156,135	$72,38 \pm 0,55$	0,000

^aGrau de liberdade; ^bSoma dos quadrados; ^cQuadrado médio; ^dCRE = Coeficientes de regressão estimados para construção da equação do modelo obtido pelo superfície de resposta.

Fonte: A autora

A Tabela 4.7 apresenta os resultados para a ANOVA para o modelo polinomial adotado. Este modelo de regressão foi avaliado por um teste F no nível de 95 % de confiança (Ribeiro et al., 2008). O valor de $F_{\text{regressão}}$ (95,83) com valor de $p=0,000$ foi superior ao valor de $F_{\text{crítico}}$ (2,42), indicando significância estatística da curva ajustada. A adequação de ajuste da curva foi avaliada por um teste de falta de ajuste a 95 % de confiança. O valor de F_{faj} (4,13) com valor de $p=0,073$ foi menor que o valor de $F_{\text{crítico}}$ (5,05), sugerindo que não houve falta de ajuste do modelo quadrático adotado no nível de confiança estudado. Assim, o modelo polinomial é adequado para prever a concentração de Cr, já que a regressão polinomial foi significativa e não existe falta de ajuste no modelo.

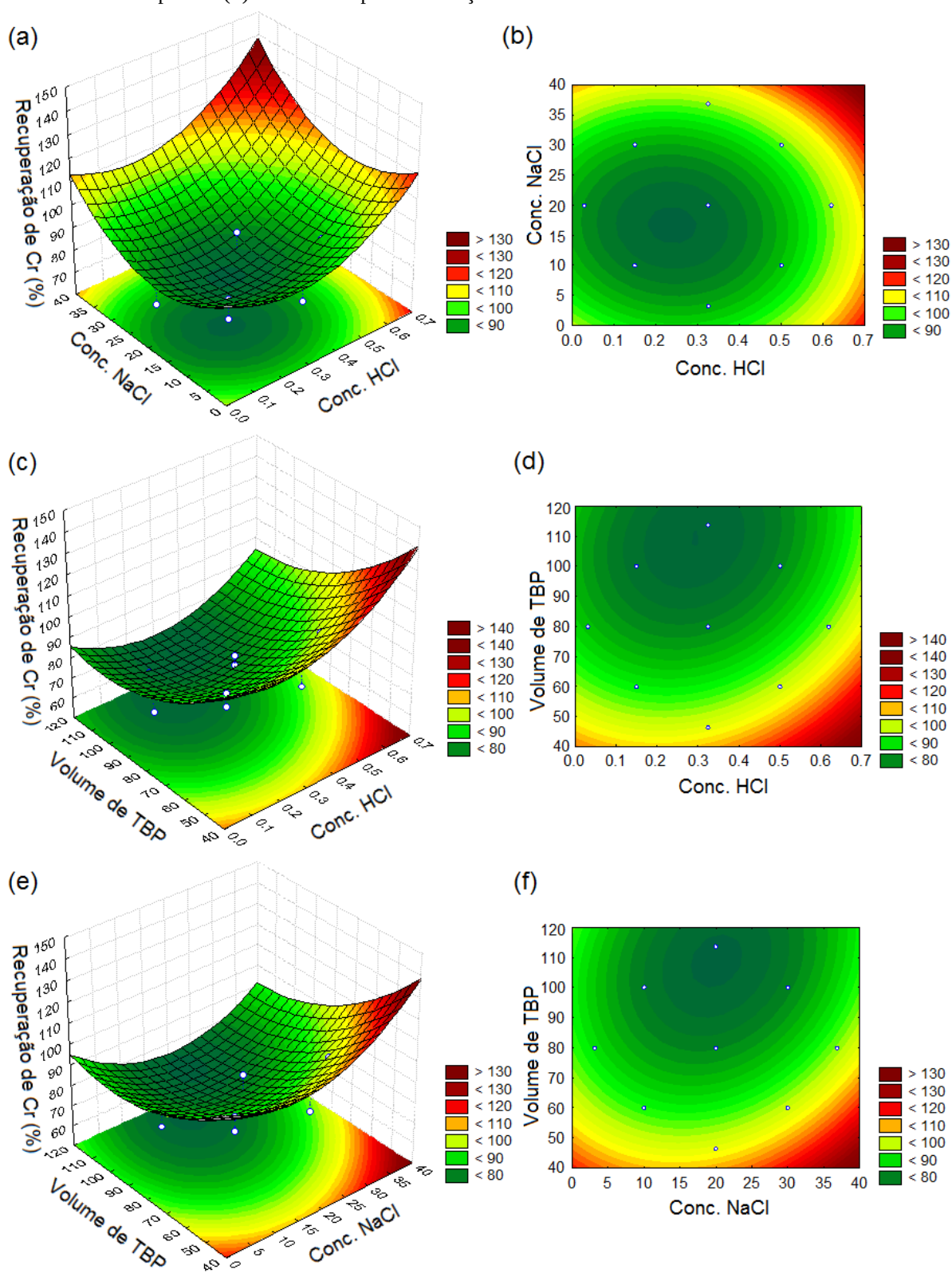
Para avaliar o modelo e garantir sua adequabilidade, o coeficiente de determinação foi estabelecido, sendo obtido um valor de R quadrado (R^2) de 98,85%, e de R quadrado ajustado (R^2_{Adj}) igual a 97,82 %, indicando que somente 2,18 % da variação observada não pode ser explicada pelo modelo.

A equação final polinomial de segunda ordem (4.7) que demonstra a relação empírica entre as variáveis independentes (concentração de HCl e NaCl e volume de TBP) e recuperação de Cr(VI) (%) foi determinada usando as equações 4.5 e 4.6:

$$\text{Cr(VI)}_{(\%) } = 156,135 - 49,7546x_1 - 1,15143x_2 - 1,34063x_3 + 0,252771x_1x_2 - 0,351486x_1x_3 - 0,007924x_2x_3 + 138,250x_1^2 + 0,0469071x_2^2 + 0,00773428x_3^2 \quad (4.7)$$

Com base na equação de regressão ($r = 0.9885$) foram obtidos os valores preditos para a recuperação de Cr(VI) (%) (Tabela 4.6). Assim, a correlação entre os valores experimentais para recuperação de Cr(VI) (%) e os valores preditos para recuperação de Cr(VI) (%) foram obtidos pela equação de regressão polinomial definida pela RCCD. A correlação entre esses dados apresenta um valor de $r = 0,994$. Este valor é próximo a 1,0, indicando que os valores apresentam boa correlação e este resultado confirma o bom ajuste do modelo quadrático. Os valores de p para os efeitos linear, de interação e quadrático (Tabela 4.7) foram obtidos e avaliados no nível de 95 % de confiança. É possível verificar que os efeitos linear, quadrático e de interação apresentam significância estatística ($p < 0,05$), com exceção do efeito de interação entre Concentração de HCl * Concentração de NaCl (AB) ($p > 0,05$). A superfície de resposta para os fatores avaliados foi construída pelo software *Statística 8.1 versão demo*, como mostra a Figura 4.8.

Figura 4.8. Gráfico de (A) superfície de resposta e (B) de contorno para a interação Conc. HCl*Conc. NaCl; (C) superfície de resposta e (D) de contorno para a interação Conc. HCl*Volume de TBP; e (E) superfície de resposta e (F) de contorno para a interação Conc. NaCl*Volume de TBP



Fonte: A autora

Avaliando a Figura 4.8a e 4.8b é possível verificar que as maiores concentrações de HCl e NaCl contribuem para o aumento da recuperação de Cr pelo procedimento de UAEME. Isso acontece devido ao fato da extração de Cr(VI) ser favorecida em baixos valores de pH (KUMBASAR, 2010). A concentração de NaCl age facilitando a interação da espécie de Cr(VI) com o solvente extrator (TBP) pelo efeito de *salting-out*, o qual permite a diminuição da solubilidade em meio aquoso devido a presença de sais inorgânicos (KIM et al., 2016; SAIEN e ASADABADI, 2010). Na Figura 4.8c e 4.8d é observada a interação entre o Conc. HCl e o volume de TBP. Neste caso, o aumento na concentração de HCl e diminuição do volume de TBP, promove um aumento na extração de Cr. De acordo com a literatura, a eficiência de extração de Cr é aumentada quando baixos volumes de TBP, sob condição ácidas, são usados (LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013). Similarmente, na Figura 4.8e e 4.8f é verificado que na interação entre Conc. NaCl e volume de TBP ocorre o aumento de extração de Cr com o aumento da concentração de NaCl e diminuição do volume de TBP. A concentração de NaCl em solução deve ser adequada para facilitar a interação entre o solvente extrator e o analito. O íon Na^+ apresenta o raio iônico pequeno, sendo este facilmente hidratado com moléculas de água, permitindo a transferência das moléculas do solvente extrator (TBP) para soluções aquosas e interação com a espécie de Cr (SAIEN e ASADABADI, 2010).

Em geral, é verificado que altas concentrações de HCl e NaCl e baixos volumes de TBP favorecem a extração de Cr pela aplicação do procedimento de UAEME, com altos valores de recuperação de Cr. Assim, para este estudo é importante obter as taxas de recuperação de Cr próximo a 100,0 %. Então, a condição ótima para extração eficiente de Cr(VI) por UAEME foi obtida no experimento 4 (Tabela 4.6) com concentrações de HCl e NaCl de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $30,0 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente, e $60,0 \text{ }\mu\text{L}$ de TBP. Esta condição permite a obtenção de recuperação de Cr de 99,97 % e foi adotada como condição de trabalho.

4.3.5 Avaliação do processo de oxidação de Cr(III) para Cr(VI)

De acordo com o protocolo proposto, ocorre a extração seletiva das espécies de Cr. Considerando que o Cr trivalente não forma complexo com o TBP, para determinação de Cr(III) é necessário quantificar o Cr(total) presente na amostra. Dessa forma é realizada uma etapa de oxidação de Cr(III) à Cr(VI) com determinação de Cr(III) pela diferença entre Cr(total) e Cr(VI). Vários agentes oxidantes podem ser usados para a transformação química na análise de especiação, como por exemplo óxido de manganês (MnO_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o permanganato de potássio (KMnO_4) (MCNEILL et al., 2012). Assim, neste trabalho, a

determinação de Cr(total) foi avaliada após oxidação de Cr(III) a Cr(VI) usando o KMnO_4 como agente oxidante. Esse agente oxidante é solúvel em água e em misturas de água e compostos orgânicos, sendo usado em sínteses orgânicas e procedimentos de especiação (LÓPEZ-GRACÍA et al., 2013; MEČIAROVA, TOMA e HERIBANOVÁ, 2000).

Ensaios foram conduzidos para verificar a possibilidade do uso desse agente oxidante e a aplicação do procedimento de extração por emulsificação assistida por micro-ondas para extração e pré-concentração de Cr. Dessa forma, uma solução padrão de Cr foi submetida ao procedimento de UAEME usando KMnO_4 como agente oxidante. Para a mesma solução, foi determinado a concentração de Cr, sem pré-concentração e sem uso de agente oxidante. Para ambas as soluções, as concentrações de Cr foram determinadas por GF AAS. Os resultados para recuperação estão apresentados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8. Resultados para recuperação de Cr(total), no estudo de avaliação do uso de agente oxidante na extração de Cr por UAEME e comparação com a técnica sem pré-concentração

Amostras	Recuperação de Cr (%) (UAEME)	Recuperação de Cr (%) (Sem pré-concentração)
Solução padrão de Cr ($5,0 \mu\text{g L}^{-1}$)	$97,1 \pm 0,10$	$97,2 \pm 0,42$

Fonte: A autora

Como mostra a Tabela 4.8, os resultados para recuperação de Cr(total) foram adequados, próximo a 100% para ambas as condições. Para a amostra submetida a uma etapa de oxidação de Cr(III) a Cr(VI) com KMnO_4 e aplicação do procedimento de UAEME com determinação por GF AAS foi obtida recuperação de $97,1 \pm 0,10$ % e para a condição em que a determinação de Cr(total) foi realizada sem preparação da amostra a recuperação foi $97,2 \pm 0,42$ %. Diante disso, observa-se que a extração de Cr(total) usando pré-concentração e KMnO_4 com agente oxidante, foi adequada. Dessa forma, a determinação dos teores de Cr(total) para uma ampla faixa de concentração pode ser realizada pelo método de UAEME com etapa prévia de oxidação, devido a extração e pré-concentração que permitem quantificação de baixos teores de Cr. Já, o método de determinação direta permite determinar os teores de Cr(total) e Cr(total) dissolvido nas amostras, com confiabilidade. Além disso, a quantificação de Cr(total) em amostras com concentrações maiores de Cr (acima do LOQ) por determinação direta, torna-se uma alternativa eficiente, aumentando a frequência analítica do método, diminuindo etapas de preparação da amostra e promovendo a diminuição no custo da análise, pelo uso de menos reagentes e menor geração de resíduos.

Portanto, o protocolo analítico empregado foi otimizado e as condições otimizadas apresentaram bons resultados para extração seletiva de Cr(VI), bem como extração de Cr(total)

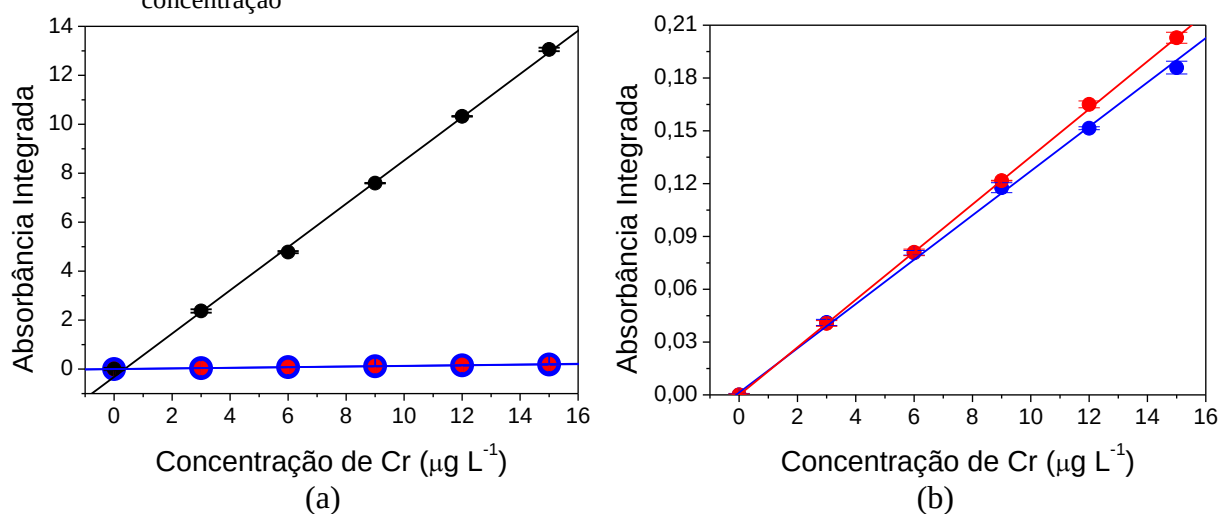
usando KMnO_4 como agente oxidante. Diante disso, um estudo de validação *in house* foi realizado, visando avaliar os parâmetros de mérito, tais como linearidade, LOD, LOQ, precisão e exatidão.

4.3.6 Estudo de validação *in house* do protocolo analítico de UAEME para extração e pré-concentração de Cr

4.3.6.1 Avaliação da forma de calibração, linearidade e fator de enriquecimento do protocolo analítico de UAEME para extração e pré-concentração de Cr

Para avaliação da calibração, curvas analíticas foram obtidas com soluções padrão submetidas ao procedimento de UAEME, com soluções padrão aquosas e solução padrão que mimetiza a condição obtida com o procedimento UAEME, portanto, com reagentes usados na microextração. Estes estudos foram realizados também para investigar a presença de interferência de matriz nas medidas e verificar a possibilidade do uso da curva analítica sem aplicação do método de UAEME para extração e quantificação de Cr por GF AAS. Isso permite o aumento da frequência analítica do método, bem como a redução da quantidade de reagentes utilizados e custo da análise. As curvas analíticas obtidas por padronização externa e em diferentes condições são mostradas na Figura 4.9. Após construção das curvas analíticas, obteve-se as equações de reta que estão apresentados na Tabela 4.9.

Figura 4.9. Avaliação de diferentes curvas analíticas para determinação de Cr por padronização externa. (a) Curvas analíticas de Cr pré-concentrada e sem pré-concentração e (b) Curvas de Cr sem pré-concentração



Fonte: A autora

Legenda: (—●—) (1) Solução padrão de Cr, submetida ao procedimento de pré-concentração por UAEME; (—●—) (2) Solução padrão de Cr em meio aquoso; (—●—) (3) Solução Padrão de Cr contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 , metanol (5,0 %, v/v) e $60,0 \text{ µL}$ de TBP

Tabela 4.9. Equações de reta das curvas analíticas obtidas na calibração instrumental da técnica GF AAS empregada na determinação de Cr e dados obtidos para o Teste de Tukey

Curva analítica*	Equação da curva analítica	r	R ^{2**}	Teste de Tukey***
1	$Abs = 13,90 \times 10^{-4} (\pm 5,20 \times 10^{-4}) + 9279,00 \times 10^{-4} (\pm 9,80 \times 10^{-4}) * C_{Cr}$	0,9973	99,7	A
2	$Abs = 12,80 \times 10^{-4} (\pm 10,2 \times 10^{-4}) + 115,90 \times 10^{-4} (\pm 1,90 \times 10^{-4}) * C_{Cr}$	0,9996	99,9	C
3	$Abs = -0,70 \times 10^{-4} (\pm 0,30 \times 10^{-4}) + 124,90 \times 10^{-4} (\pm 0,40 \times 10^{-4}) * C_{Cr}$	0,9999	99,9	B

* Identificação da curva analítica: (1) Cr após procedimento de UAEME; (2) Solução padrão de Cr em meio aquoso; (3) Solução de Cr com 0,05 mol L⁻¹, metanol (5,0 %, v/v) e 60,0 µL de TBP; ** Coeficiente de determinação; Teste de Tukey: letras iguais não diferem e letras diferentes são significativamente diferentes.

Fonte: A autora

A Figura 4.9a mostra as curvas analíticas construídas por padronização externa para determinação de Cr extraído por UAEME. É possível observar que a curva pré-concentrada apresenta valores superiores de absorbância, como esperado. Portanto, maior inclinação, em relação as curvas analíticas construídas sem pré-concentração. Na Figura 4.9b, foi possível observar que as inclinações das curvas sem pré-concentração mostraram uma variação nas inclinações. Esse comportamento também pode ser melhor observado pelas equações das curvas apresentadas na Tabela 4.9. Um teste F foi aplicado para verificar se as inclinações apresentaram diferenças significativas. Os resultados mostraram que as inclinações diferem significativamente (intervalo de confiança e Teste-F ($F_{\text{calculado}} (40,46) > F_{\text{crítico}} (2,66)$)). Como mostrado na Tabela 4.9, a comparação dos valores de inclinação das curvas analíticas, provaram a capacidade de pré-concentração do método de UAEME, sendo que a curva construída após aplicação do UAEME (curva 1) foi mais sensível. No entanto, a preparação de cada ponto do gráfico (concentração) com pré-concentração de Cr por UAEME requer um longo tempo de análise e um maior consumo de reagentes. Portanto, a forma de calibração escolhida foi a solução aquosa sem pre-concentração. Comparando-se as curvas sem pré-concentração (curvas 2 e 3), observa-se que existe uma diferença significativa nas inclinações, como mostrado no Teste de Tukey (Tabela 4.9). A curva 3 apresenta uma inclinação um pouco superior e assim, um aumento da sensibilidade na determinação de Cr por GF AAS. Esta curva apresenta uma composição mais similar com a composição da curva pré-concentrada, devido à adição dos reagentes utilizados no procedimento de UAEME. Assim, o método de calibração que contém solução padrão de Cr, 0,05 mol L⁻¹ de HNO₃, metanol (5,0 %, v/v) e 60,0 µL de TBP foi escolhido para o presente estudo.

Com a forma de calibração pré-definida para quantificação de Cr, foi realizado um estudo de linearidade. Para isso, curvas analíticas que mimetizam a condição de extração foram construídas em triplicata na faixa de concentração de 0,0 a 15,0 µg L⁻¹. Uma análise de ANOVA característica da regressão linear e um teste de falta de ajuste, ambos em um nível de 95 % de

confiança foram realizados para verificar se o modelo gerado era apropriado (ARAUJO, 2009; BARROS NETO, SCARMÍNIO e BRUNS, 2006). A Tabela 4.10, mostra os resultados para a análise de regressão linear e teste de falta de ajuste obtidos no estudo de linearidade.

Tabela 4.10. Resultados da análise de regressão linear e teste de falta de ajuste em um nível de 95% de confiança para o estudo de linearidade

Curva	Parâmetros			
	Regressão ^a		Teste de falta de ajuste ^b	
Curva 3:	<i>F_{regressão}</i>	<i>valor de p</i>	<i>F_{faj}</i>	<i>valor de p</i>
Curva analítica de	26532,19	0,000	2,33	0,089
Cr em meio de	<i>Coefficientes da Regressão Linear ± Intervalo de confiança</i>		<i>t_{observado}</i> ^c	<i>valor de p</i>
HNO ₃ , metanol e				
TBP	Intercepto : -0,00007 ± 0,00003		0,41	0,682
	Inclinação: 0,01249 ± 0,00004		162,89	0,000

^a $F_{critico (0,05; 1, 43)} = 4,067$; ^b $F_{critico (0,05; 3, 40)} = 2,839$; ^c $t_{critico (0,025, 43)} = 2,021$

Fonte: A autora

Na avaliação da regressão (Tabela 4.10) observa-se que o $F_{regressão}$ (26532,19) para a curva avaliada foi superior ao $F_{critico}$ (4,067). Com isso é possível verificar que a regressão é significativa, em um nível de 95% de confiança. Pelo teste de falta de ajuste avaliado foi possível verificar que o F_{faj} para a curva (2,33) foi menor que o $F_{critico}$ (2,839), indicando que o valor para o teste de falta de ajuste não foi significativo em um nível de 95% de confiança. Assim, os resultados mostraram que o modelo linear é adequado para estabelecer a relação entre a absorbância e a concentração de Cr. Além disso, a significância dos coeficientes da curva analítica (coeficiente angular e linear) foi avaliada pela aplicação de um teste-t. Os resultados mostraram que somente a inclinação foi significativa pois o valor de t_{obs} (162,89) foi maior que $t_{critico}$ (2,021) para o coeficiente angular, enquanto que o coeficiente linear apresentou um valor de t_{obs} (0,41) menor que o valor de $t_{critico}$ (2,021), não indicando significância. Além disso, o coeficiente de correlação obtido ($r = 0,9999$) sugere que existe uma correlação linear entre a concentração e o sinal de absorbância obtido, o qual está dentro dos limites aceitáveis pela legislação ($r > 0,99$) (BRASIL, 2003).

O uso de uma forma mais simples de calibração, sem pré-concentração, para determinação de elementos por GF AAS permite a minimização dos custos de análise, bem como a maior frequência analítica. No entanto, é necessário conhecer o fator de enriquecimento ou fator de pré-concentração para determinar a concentração do elemento na amostra.

O fator de pré-concentração (FC) para o procedimento proposto foi obtido. Os valores de FE foram 76,5 e 78,9 vezes para Cr(VI) e Cr(total), respectivamente. López-Garcia et al. (2013) desenvolveu um método de DLLME para especiação de Cr por ET AAS, usando o TBP

como agente extrator. Em seus estudos, o FE foi determinado pela razão entre as inclinações das curvas pré-concentradas pelo DLLME e curva sem pré-concentração, sendo encontrado um valor de FC de 240. Diferentes formas de determinação do FE são descritas na literatura (AL-SAIDI e EMARA, 2014; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; MOREIRA, YOKAYA e DE GAITANI, 2014). As diferenças observadas entre os resultados obtidos e os resultados relatados na literatura podem estar relacionado com as condições de análise e volume de agente extrator, bem como a forma de determinação de FC.

4.3.6.2 Limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para especiação de Cr usando UAEME e determinação por GF AAS

Os LOD e LOQ foram calculados e os valores obtidos foram 0,85 ng L⁻¹ e 2,83 ng L⁻¹, respectivamente. Esses valores são adequados e mostram que é possível a quantificação de baixas concentrações de Sb por UAEME com detecção por GF AAS. Além disso, os valores de LOD e LOQ obtidos nesse estudo foram similares aos valores encontrados na literatura, sendo na faixa de 0,002 µg L⁻¹ (2,0 ng L⁻¹) a 0,07 µg L⁻¹ (70,0 ng L⁻¹) (CHEN et al., 2010; LÓPEZ-GARCÍA, VICENTE-MARTÍNEZ e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2012; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013).

4.3.6.3 Precisão

Para verificar a confiabilidade do procedimento para Cr foi avaliada a repetitividade e precisão intermediária para amostras de água mineral e natural. Os resultados foram expressos como desvio padrão relativo (RSD). A precisão intermediária foi também avaliada pelo valor Horrat (AOAC, 2012; GONZÁLEZ, HERRADOR e ASUERO, 2010). Os resultados para a precisão estão apresentados na Tabela 4.11.

Tabela 4.11. Resultados do estudo de precisão para Cr(VI) e Cr(total) por UAEME e GF AAS

Amostra	Espécie	Repetitividade	Precisão Intermediária	Valor Horrat
		RSD (%)	RSD (%)	
Água mineral	Cr(VI)	3,51	3,02	0,28
	Cr(total)	5,30	2,40	0,25
Água natural	Cr(VI)	4,91	6,98	0,37
	Cr(total)	1,44	2,79	0,54

Fonte: A autora

Como pode ser observado (Tabela 4.11), os valores de RSD calculados para Cr(VI) para repetitividade e precisão intermediária foram 3,51% e 3,02%, respectivamente, para água

mineral. Para água natural os valores de RSD para Cr(VI) foram 4,91% e 6,98%, para repetitividade e precisão intermediária, respectivamente. Para determinação de Cr(total) pelo método de oxidação e pré-concentração por UAEME em água mineral, foram obtidos valores de RSD de 5,30 % e 2,40% para repetitividade e precisão intermediária, respectivamente. Para água natural, os valores de RSD para determinação de Cr(total) foram de 1,44% e 2,79%, para repetitividade e precisão intermediária, respectivamente. Os valores de RSD (%) para repetitividade foram considerados apropriados, sendo que estes valores foram menores que os recomendados pela AOAC (2012) ($RSD(\%) < 11,0$).

A precisão intermediária foi também avaliada pelo valor Horrat (AOAC, 2012; GONZÁLEZ, HERRADOR e ASUERO, 2010). Os valores Horrat obtidos para Cr(VI) e Cr(total) para água mineral foram de 0,28 e 0,25, respectivamente. Os valores Horrat obtidos para Cr(VI) e Cr(total) para água natural foram de 0,37 e 0,54, respectivamente. Os valores foram adequados, sendo que o limite aceitável para precisão de estudos intralaboratoriais devem ser menores que 1,3 (GONZÁLEZ, HERRADOR e ASUERO, 2010). Portanto, os resultados de precisão indicaram que a análise de especiação de Cr pelo método de UAEME proposto, com determinação por GF AAS, é preciso, apresentando baixa variabilidade nas análises realizadas intra-dias e inter-dias em amostras de água mineral e natural.

López-García et al. (2013) avaliaram a precisão do método de DLLME que desenvolveram para especiação de Cr em amostras de água e soluções lixiviadas de brinquedos plásticos. A repetitividade para Cr(VI) e Cr(III) foram 7,2 e 8,1%, respectivamente. A reprodutibilidade foi avaliada durante 5 dias e os valores de RSD para Cr(VI) e Cr(total) foram 10,5 e 11,1%, respectivamente.

4.3.6.4 Estudo de interferência de íons

O potencial efeito de interferência de alguns elementos traço, tais como Sb(III), Sb(V), Ni(II), Fe(III), Zn(II), Cu(II), Pb(II) e Cd(II) na extração de Cr(VI) por UAEME foi avaliado. Esses elementos foram escolhidos porque são elementos que podem ser encontrados no ambiente (solo, água, plantas) de forma natural ou provindos da ação humana (atividades industriais) e também utilizados na fabricação das embalagens PET, sendo adicionados às embalagens durante o processo de fabricação (etapa de pigmentação) ou estarem presentes na matriz alimentar (CADORE, MATOSO e SANTOS, 2008; REIMANN, BIRKE E FILZMOSE, 2010). A faixa de concentração avaliada foi escolhida considerando a faixa de concentração que possivelmente pode estar presente nas amostras estudadas. Este estudo foi realizado pela preparação de uma solução padrão contendo $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI) e Cr(III) e de

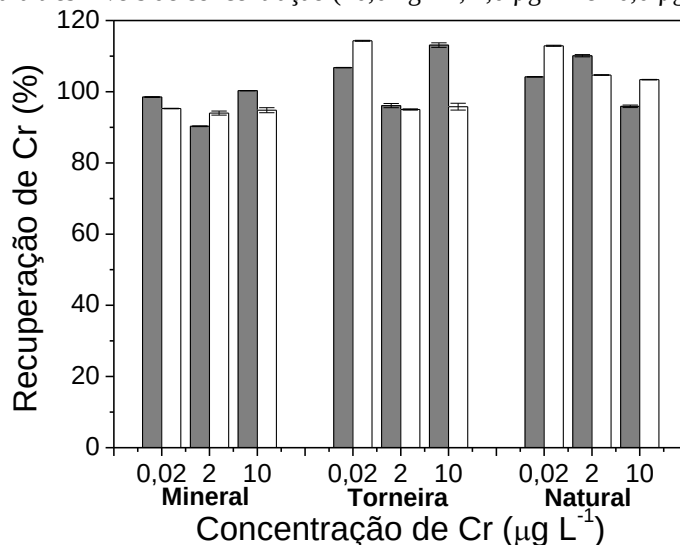
cada espécie citada anteriormente. Para determinação de Cr(total) por UAEME, a solução amostra contendo as espécies estudadas, foi submetida a uma etapa de oxidação com KMnO_4 , seguida do procedimento de UAEME e quantificação por GF AAS. Enquanto que, para determinação de Cr(VI), a solução amostra foi submetida ao procedimento de UAEME e posteriormente analisada por GF AAS. O resultado para recuperação de Cr(VI) e Cr(total) por UAEME foi de $103,7 \pm 0,26 \%$ e $98,8 \pm 0,24 \%$, respectivamente. Isso mostra que não existe efeito de interferência significativo na determinação de Cr e este método é seletivo para especiação deste elemento.

López-Garcia et al. (2013) realizou um estudo de interferência, com os íons Pb(II), Cd(II) e Cu(II) na especiação de Cr por DLLME com ET AAS. De forma similar, não foi observado interferência significativa até a faixa investigada ($1,0 \text{ g L}^{-1}$).

4.3.6.5 Exatidão

A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação em três níveis de concentração ($20,0 \text{ ng L}^{-1}$, $2,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $10,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) em amostra de água mineral, amostra de água de torneira e amostra de água natural. Os teores de Cr(VI) e Cr(total) nas amostras foram determinados, sendo os ensaios realizados em triplicata. Em seguida, as amostras foram fortificadas e determinadas os teores das espécies de interesse. Todas as amostras foram preparadas e analisadas em triplicata. Os resultados são expressos como percentagem de recuperação para Cr(VI) e Cr(total) e são mostrados na Figura 4.10.

Figura 4.10. Recuperação de (□) Cr(total) e (■) Cr(VI) para amostras de água mineral, água de torneira e água natural, para três níveis de concentração ($20,0 \text{ ng L}^{-1}$, $2,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $10,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$)



Fonte: A autora

A Figura 4.10 mostra os resultados obtidos para o estudo de exatidão para especiação de Cr em amostras de água mineral, água de torneira e água natural, em três níveis de concentração de Cr(III) e Cr(VI), como estimativas de percentagem de recuperação. Os resultados de recuperação obtidos para Cr(total) variaram na faixa de $94,0 \pm 0,56 \%$ a $114,3 \pm 0,14 \%$ para os três níveis de recuperação estudados para as amostras de água avaliadas. Os teores de Cr(VI) também foram determinados, sendo obtidos valores de recuperação na faixa de $90,3 \pm 0,11 \%$ a $113,1 \pm 0,64 \%$ na faixa de concentração avaliada para todas as amostras de água. Os valores de recuperação estão dentro dos limites aceitáveis (60-115 %) para a faixa de concentração avaliada (AOAC, 2012). Estes resultados indicam que o método de UAEME com determinação por GF AAS para quantificação de Cr(total) e Cr(VI) apresentam boa exatidão na análise deste elemento para todas as amostras de água estudadas.

López-García, Vicente-Martínez e Hernández-Córdoba (2012) realizaram a especiação de Cr(III) e Cr(VI) em água mineral (natural e carbonatada), água de torneira e do mar e soluções lixiviadas de brinquedos de plástico, por DLLME e determinação por ET AAS, usando APDC como complexante, e a mistura formada 1-octil-3-metil imidazolim bis((trifluorometano)sulfonil)imida - ([C8NIm][NTf2]) como fase extratora. As amostras avaliadas foram fortificadas com diferentes concentrações de Cr(VI) e Cr(III) (0,01 e 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes razões de Cr(VI)/Cr(III) (0,01/0,1, 0,1/0,1, 0,1/0,01) antes de aplicação do método de DLLME. As recuperações obtidas foram na faixa aceitável (95,0 – 110,0 %) (LÓPEZ-GARCÍA, VICENTE-MARTÍNEZ e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2012). Em outro trabalho, López-García et al. (2013) realizou a especiação de Cr(III) e Cr(VI) em água mineral, água de torneira e do mar e soluções lixiviadas de brinquedos de plástico, por DLLME e ET AAS, usando TBP como agente extrator e agitação ultrassônica para dispersão das moléculas de TBP em solução. As amostras foram fortificadas com diferentes proporções das espécies de Cr(III) e Cr(VI) (0,01 a 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$) e as recuperações foram na faixa aceitável (97-108 %) (LÓPEZ-GRACÍA et al., 2013).

A exatidão para determinação de Cr(total), em faixas maiores de concentração (2,0 a 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) foi avaliada ainda sem-pré-concentração, somente com a determinação de Cr por GF AAS, em soluções das amostras enriquecidas. Os resultados para recuperação de Cr (%) por extração por UAEME e sem extração está apresentada na Tabela 4.12.

Tabela 4.12. Resultados para recuperação de Cr (%) pelo método de UAEME e por determinação por GF AAS, sem pré-concentração

Amostras	Concentração de Cr adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação de Cr (%) (UAEME)	Recuperação de Cr (%) (Sem pré-concentração)
Água mineral	2,0	94,2 $\pm$ 0,56	95,9 $\pm$ 0,16
	10,0	94,8 $\pm$ 0,71	95,4 $\pm$ 0,19
Água de torneira	2,0	95,0 $\pm$ 0,17	95,2 $\pm$ 0,78
	10,0	95,8 $\pm$ 0,95	95,1 $\pm$ 0,91
Água natural	2,0	104,69 $\pm$ 0,08	105,2 $\pm$ 0,38
	10,0	103,39 $\pm$ 0,06	104,4 $\pm$ 0,41

Fonte: A autora

Como pode ser observado na Tabela 4.12, os resultados para recuperação de Cr para ambos os métodos foram adequados, estando dentro do limite aceitável pela legislação (60-115 %) para a faixa de concentração avaliada (AOAC, 2012). Isso mostra que as concentrações de Cr(total) nessas matrizes podem ser determinadas por UAEME e sem pré-concentração, com confiabilidade.

De forma geral, o estudo de validação *in-house* mostrou que o método de extração de Cr por UAEME com determinação por GF AAS, para as amostras de água apresentou boa linearidade, seletividade, sensibilidade e foi preciso e exato, podendo ser utilizado para especiação de Cr em amostras de água mineral e natural com confiabilidade.

4.3.7 Especiação de cromo em amostras de água mineral usando extração por UAEME e determinação por GF AAS

Após otimização e validação do método para especiação de Cr, foi realizado um estudo de especiação de Cr por UAEME aliado a GF AAS em amostras de água mineral comercializadas nos estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil. Essas amostras estavam envasadas em garrafa do tipo PET. O teor de Cr nas amostras de água mineral foi avaliado, devido ao fato de que, Cr pode estar presente em água mineral. Além disso, a presença de Cr pode ser decorrente da lixiviação de embalagens PET para a água mineral, visto que compostos a base de cromo são adicionados às embalagens, tais como, cromato de chumbo (PbCrO_4) e óxido de cromo puro (CrO_3) (CADORE, MATOSO e SANTOS, 2008).

De modo a comparar os resultados de Cr total obtidos para as amostras avaliadas foi aplicado um Teste de Tukey em um nível de 95,0% de confiança para as concentrações totais de Cr. Os resultados para a especiação de Cr e Teste de Tukey estão apresentados na Tabela 4.13. As concentrações de Cr(total) estão mostradas na Figura 4.11.

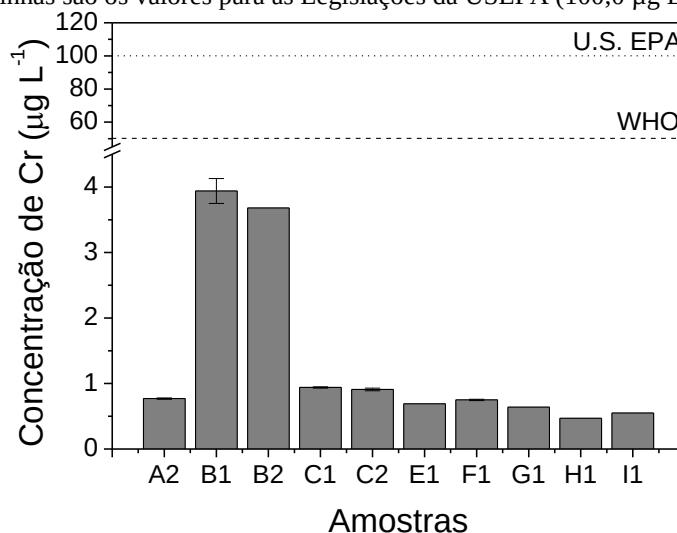
Tabela 4.13. Concentrações de Cr(total), Cr(III) e Cr(VI) determinados em amostras de água mineral empregando o procedimento proposto (UAEME aliada a GF AAS)

Amostra	Cr(total) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cr(VI) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cr(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Teste de Tukey
A2	0,77 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,02	0,58	CDE
B1	3,9 $\pm$ 0,19	2,3 $\pm$ 0,13	1,7	A
B2	3,68 $\pm$ 0,04	2,2 $\pm$ 0,16	1,5	B
C1	0,94 $\pm$ 0,01	0,60 $\pm$ 0,11	0,30	C
C2	0,91 $\pm$ 0,02	0,56 $\pm$ 0,06	0,35	C
E1	0,69 $\pm$ 0,03	0,02 $\pm$ 0,01	0,66	EF
F1	0,75 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,70	DE
G1	0,64 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	0,57	EFG
H1	0,47 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,43	G
I1	0,55 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01	0,47	FG

Teste de Tukey: letras iguais não diferem e letras diferentes são significativamente diferentes.

Fonte: A autora

Figura 4.11. Concentração de Cr(total) determinada em amostras de água mineral envasadas em embalagens PET. As linhas são os valores para as Legislações da USEPA (100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) e WHO (50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$)



Fonte: A autora

A Figura 4.11 mostra os resultados obtidos na especiação de Cr nas amostras de água mineral. Nessa figura nota-se que o Cr(total) foi quantificado para todas as amostras avaliadas, sendo encontrados valores de Cr(total) que variaram entre 0,47 $\pm$ 0,01 (amostra H1) a 3,9 $\pm$ 0,19 $\mu\text{g L}^{-1}$ (amostra B1). O Cr pode ser encontrado em água mineral, de forma natural ou decorrente de atividades antrópicas, bem como pela migração desse elemento a partir da embalagem PET para água mineral envasada.

Observa-se que os teores de Cr(total) obtidos neste trabalho se encontram dentro do limite estabelecido de 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ pela Organização Mundial da Saúde (WHO) para água potável e pela Anvisa para água potável e natural, respectivamente, sendo um valor de O valor preconizado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S.EPA) para água

mineral é $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (BRASIL, 2005; EPA, 1996; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013; MARCINKOWSKA, KOMOROWICZ e BARAŁKIEWICZ, 2016; WHO, 2003).

Um Teste de Tukey em um nível de 95,0% de confiança foi aplicado às amostras e foi observado que, de modo geral, as concentrações de Cr total foram diferenciadas entre as amostras avaliadas, sendo que o valor de $F_{\text{observado}}$ (1435,52) foi maior que o $F_{\text{crítico}}$ (2,223), indicando que existem diferenças significativas entre os valores de Cr(total) encontrados nas amostras. A diferença nas concentrações de Cr(total) obtidas nas amostras pode estar relacionada com a presença natural desse elemento na água mineral, devido as características da amostra, bem como as características e composição da embalagem de envase. É conhecido que compostos a base de cromo são adicionados às embalagens, como pigmentos, durante sua produção, o que pode promover a lixiviação deste elemento para a água (CADOORE, MATOSO e SANTOS, 2008).

De uma forma geral, no presente trabalho, as concentrações de Cr total encontradas nas amostras de água mineral foram similares as concentrações reladas na literatura, com exceção do fabricante B, a qual apresentou uma alta concentração de Cr(total). As amostras do fabricante B são engarrafadas em uma embalagem PET de composição diferente (30% de PET a base de planta) e a fonte de água é diferente das demais amostras. Observa-se assim, que as concentrações de Cr(total) foram similares entre as amostras de um mesmo fabricante, mas diferem entre os fabricantes.

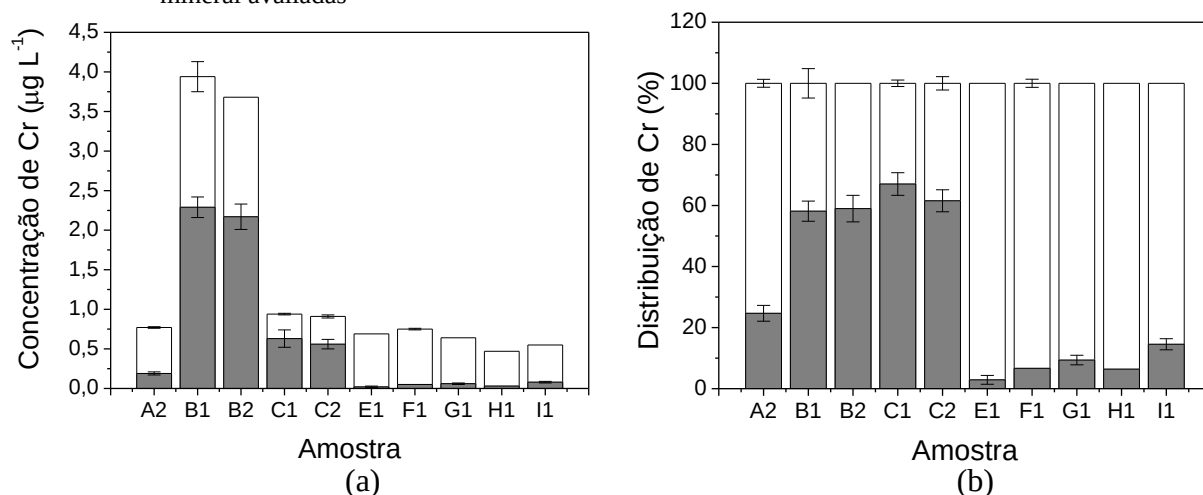
Na literatura foram encontrados valores de Cr em água potável normalmente menor ou igual a $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (CHWASTOWSKA et al., 2005; MARCINKOWSKA, KOMOROWICZ e BARAŁKIEWICZ, 2016; MARCINKOWSKA, LORENC e BARALKIEWICZ, 2017). Alguns estudos reportam concentrações de Cr entre 0,6 e $5,6 \mu\text{g L}^{-1}$. Marcinkowska, Lorenc e Baralkiewicz (2017) em seus estudos observaram a presença de maiores concentrações de Cr(VI) em água envasada em vidro de coloração verde e embalagens plásticas.

Para o presente estudo, foi realizada ainda uma comparação entre as concentrações de Cr em amostras de água mineral envasada em embalagens incolores e coloridas. Com os resultados, foi observada que as concentrações médias de Cr nas amostras envasadas em embalagens incolores ($1,90 \pm 1,73 \mu\text{g L}^{-1}$) foram superiores as concentrações de Cr obtidas nas amostras envasadas em embalagens coloridas ($0,76 \pm 0,17 \mu\text{g L}^{-1}$). Esse fato pode estar relacionado com a composição das embalagens ou das amostras de água mineral.

A Tabela 4.13 apresenta ainda os resultados para Cr(III) e Cr(VI). Observa-se de um modo geral que as concentrações das espécies apresentaram uma distribuição variada entre as amostras. Para uma melhor avaliação da presença de diferentes espécies de cromo nas amostras,

a distribuição das espécies foi calculada em relação ao teor total. A Figura 4.12 mostra a distribuição das espécies de Cr(III) e Cr(VI) nas amostras de água mineral avaliadas.

Figura 4.12. (a) Concentração e (b) distribuição das espécies de (■) Cr(VI) e (□) Cr(III) nas amostras de água mineral avaliadas



Fonte: A autora

A Figura 4.12a mostra a concentração de Cr nas amostras de água mineral avaliadas. Foi observado que as concentrações de Cr(VI) variaram na faixa de $0,02 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ a $2,3 \pm 0,13 \mu\text{g L}^{-1}$ para as amostras de água mineral estudadas. Para Cr(III), as concentrações variaram na faixa de 0,30 a $1,7 \mu\text{g L}^{-1}$ nas amostras de água mineral. Chwastowska et al. (2005) encontrou em seus estudos concentrações de Cr(VI) em amostras de água mineral da Polônia na faixa de 0,06 a $0,45 \mu\text{g L}^{-1}$. A Figura 4.12b mostra a distribuição de Cr nas amostras de água mineral. Foi observado que a porcentagem de Cr(VI) nas amostras variou entre 2,9 % e 67,0%, enquanto que Cr(III) variou de 31,91 % a 95,65 % do total de Cr, respectivamente.

Diante disso, é possível verificar que 04 amostras (fabricantes B e C) apresentaram como espécie predominante o Cr(VI), variando entre 58 e 67% do teor total. Essas amostras apresentaram distribuição semelhante, com predominância de Cr(VI), embora suas características sejam diferentes. O fabricante B apresenta uma embalagem incolor, maleável e composta de 30% do PET a base de planta, enquanto o fabricante C apresenta uma embalagem azul clara transparente e mais rígida.

No entanto, a espécie predominante em 06 amostras brasileiras foi o Cr(III), representando 75 a 96 % da concentração total de Cr encontrada nas amostras. Sugere-se que a presença e distribuição de Cr nas amostras de água mineral avaliadas pode estar relacionada com fatores tais como, as características da fonte da água mineral, o pH, presença de O_2 e ligantes, condições de estocagem das embalagens PET (radiação solar e temperatura), as

características das embalagem e presença deste elemento na embalagem PET e a possível migração para a água mineral. Dessa forma, a presença de Cr nas amostras pode ser influenciada ainda pelas características e composição das embalagens, visto que compostos a base de cromo são adicionados às embalagens, tais como, cromato de chumbo (PbCrO_4) e óxido de cromo puro (CrO_3) (CADORE, MATOSO e SANTOS, 2008).

Em soluções aquosas oxigenadas com $\text{pH} > 7$, é esperado que Cr(VI) seja a espécie predominante, na ausência de complexante além de H_2O e OH^- (KOTAŚ e STASICKA, 2000). Em valores de pH mais ácido é esperado que a espécie predominante seja o Cr(III). No caso das amostras, a faixa de pH foi de 5,84 a 9,75. Para os fabricantes B e C, os pH foram de 8,66 e 7,60, respectivamente. Para essas amostras o pH pode apresentar alguma influência na presença de Cr(VI), visto que esta espécie foi predominante nas amostras desses dois fabricantes. Para as demais amostras não foi observado uma influência efetiva do pH nos maiores teores de Cr(III), visto que os valores de pH para as demais amostras foram variáveis.

Em relação à coloração das embalagens, foi observado que as concentrações médias para Cr(III) em amostras incolores ($0,99 \pm 0,56 \mu\text{g L}^{-1}$) foram maiores que as concentrações médias de Cr para amostras coloridas ($0,45 \pm 0,13 \mu\text{g L}^{-1}$). Comportamento similar foi observado para Cr(VI) em que as concentrações médias foram de $0,92 \pm 1,21 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,23 \pm 0,26 \mu\text{g L}^{-1}$, para amostras incolores e coloridas, respectivamente. Dessa forma, observa-se que a coloração apresentou uma influência na distribuição de Cr nas amostras, sendo que as amostras incolores apresentaram maiores teores das duas espécies.

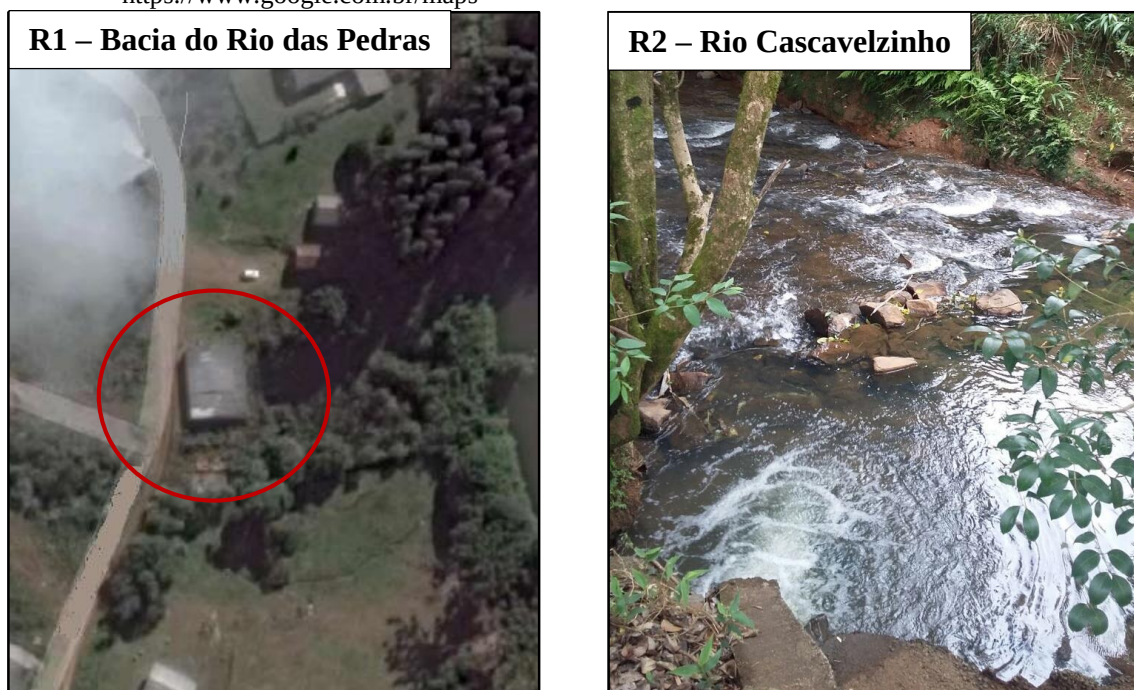
Estudos encontrados na literatura para especiação de Cr por DLLME com detecção por ET AAS em amostras de água mineral (natural e carbonatada) e água de torneira, relataram valores de Cr(VI) e Cr(III) de $0,008$ - $0,098 \mu\text{g L}^{-1}$ e ND - $1,44 \mu\text{g L}^{-1}$ (CHEN et al., 2010; LÓPEZ-GARCÍA, VICENTE-MARTÍNEZ e HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2012; LÓPEZ-GARCÍA et al., 2013).

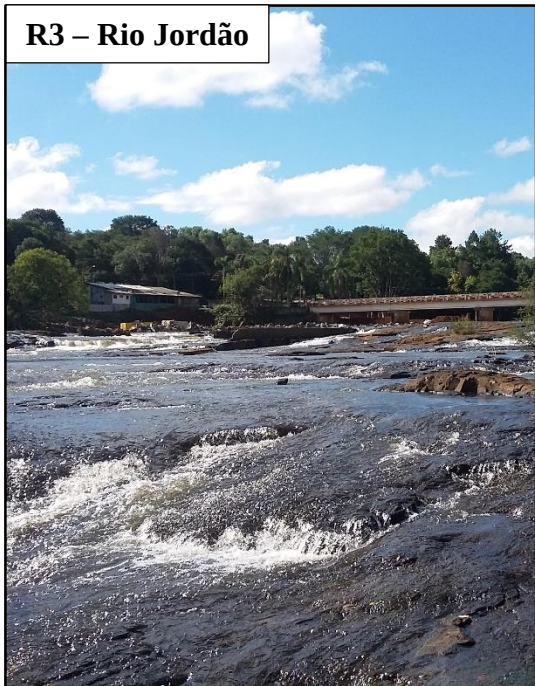
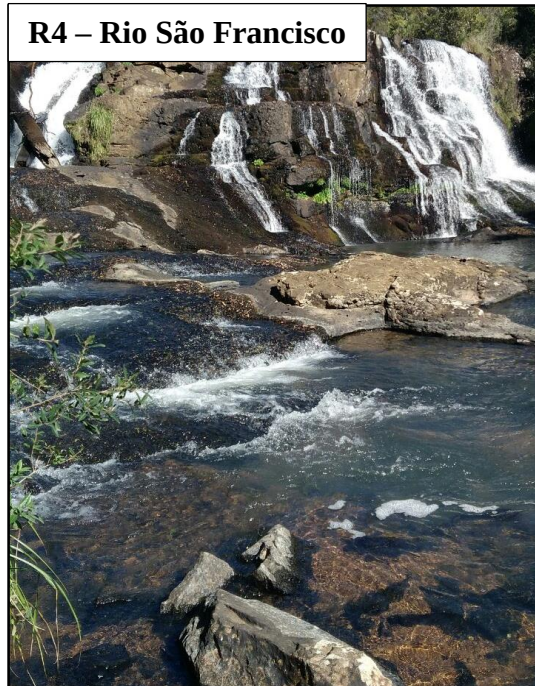
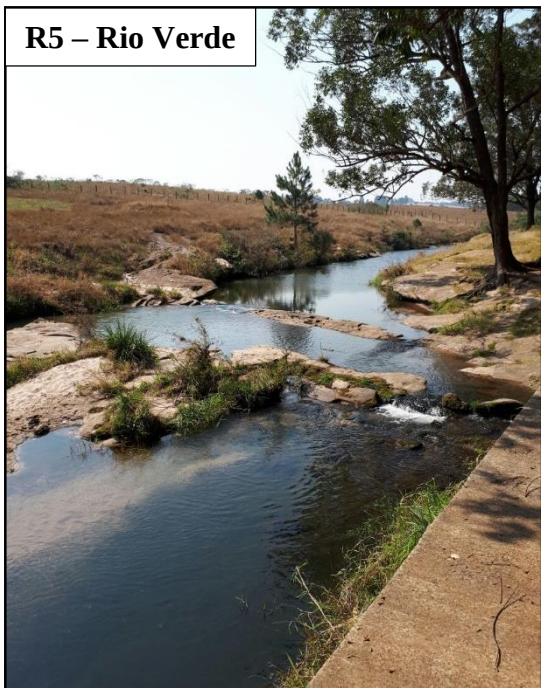
Assim, de forma geral, o método de UAEME e a técnica de GF AAS mostrou ser eficiente para a especiação de Cr(VI) e Cr(III) em amostras reais de água mineral, sendo que para amostras Brasileiras avaliadas, a espécie mais tóxica (Cr(VI)) foi majoritária somente para dois fabricantes. Enquanto que a espécie de Cr(III), essencial para os seres humanos, foi majoritária para a maioria das amostras. Além disso, os níveis de Cr encontrado para essas amostras foram baixos, indicando que a água mineral pode ser consumida pelos seres humanos com segurança.

4.3.8 Especificação de Cr em amostras de água natural da Região do Paraná e avaliação da qualidade de água

A presença de espécies de cromo em águas superficiais de diferentes pontos e cidades do Paraná foi avaliada de acordo com o procedimento desenvolvido nesse trabalho. Além disso, alguns parâmetros de qualidade de água também foram determinados tais como o pH, teores de íons cloreto, sólidos suspensos totais (SST) e carbono orgânico dissolvido (COD) visando conhecer os aspectos de qualidade das águas e ainda como forma de compreender o comportamento da especiação de Cr encontrada nessas amostras. A escolha dos pontos amostrais deve-se ao fato desses locais urbanos ou rurais poderem apresentar influência da alguma atividade humana, visto que são águas usadas para abastecimento, lazer e ainda próximo a regiões agrícolas. A Figura 4.13 mostra as fotografias referente aos locais de coleta das amostras utilizadas no estudo.

Figura 4.13. Fotografias dos locais de amostragem das cidades de Guarapuava (R1 a R4), Ponta Grossa (R5 a R7) e Santa Terezinha de Itaipu (R8). R1 é uma amostra coletada em um curtume situado na região de Guarapuava, e a fotografia mostrada refere-se à localização obtida por <https://www.google.com.br/maps>



R3 – Rio Jordão**R4 – Rio São Francisco****R5 – Rio Verde****R6 – Rio São Jorge**



Fonte: A autora

O ponto de coleta R1, refere-se ao rio das Pedras localizado em Guarapuava – PR. Este ponto de coleta encontra-se na área urbana da cidade, e caracteriza-se por ser um local com influência antrópica, devido a atividade de curtume. No entanto, o curtume encontra-se desativado a aproximadamente três anos.

O ponto R2, refere-se ao rio Cascavelzinho, localizado na cidade de Guarapuava - PR. Esse ponto encontra-se na região urbana da cidade, com atividade antrópica, tais como rejeitos domésticos e descarte de lixo. A estação de tratamento de esgoto (ETE) da cidade passa próximo ao rio Cascavelzinho, sendo que a água após tratada é lançada neste rio. No entanto, o ponto de coleta foi distante desse local. Além disso, no ponto de coleta, o rio passa próximo a uma Universidade, onde são desenvolvidas pesquisas na área agrícola, com uso de fertilizantes e agrotóxicos, que podem entrar em contato com o corpo aquático. Neste ponto foram realizadas duas coletas (A e B) em períodos diferentes.

O ponto R3, refere-se ao rio Jordão, localizado na cidade de Guarapuava - PR. Esse ponto encontra-se em uma região urbana mais isolada da cidade, caracterizada por atividades agrícolas. Além disso, o rio é utilizado como ponto turístico, para lazer pela população. Neste ponto foram realizadas duas coletas (A e B) em períodos diferentes.

O ponto R4, refere-se ao rio São Francisco, localizado na divisa entre as cidades de Guarapuava, Turvo e Prudentópolis, Paraná. O ponto de coleta foi realizado na região que compreende Guarapuava, estando a 52 km do centro da cidade. Esse ponto encontra-se na

região rural e o local é utilizado como ponto turístico, para lazer pela população.

O ponto R5, refere-se ao rio Verde, localizado na cidade de Ponta Grossa - PR. Esse ponto encontra-se em uma região urbana da cidade, caracterizada por atividades antrópicas, tais como descarte doméstico e lixo. No ponto de coleta, o rio passa próximo a uma Universidade, onde são desenvolvidas pesquisas na área agrícola, com uso de fertilizantes e agrotóxicos. Além disso, o rio é utilizado para lazer pela população.

O ponto R6, refere-se ao rio São Jorge, localizado na cidade de Ponta Grossa - PR. Esse ponto encontra-se em uma região mais isolada da cidade (rural, com população próxima). Além disso, o rio é utilizado como ponto turístico, para lazer pela população.

O ponto R7, refere-se ao rio Pitangui, localizado na cidade de Ponta Grossa - PR. Esse ponto encontra-se em uma região mais isolada da cidade (rural, com população próxima). Além disso, o rio é caracterizado por atividades antrópicas, tais como descarte doméstico.

O ponto R8, refere-se ao rio Paraná, localizado na cidade de Santa Terezinha de Itaipu - PR. Esse ponto encontra-se em uma região mais isolada da cidade (rural, com população próxima). O rio é utilizado para abastecimento da cidade, fica próximo a usina de Itaipu. Além disso, é conhecido como praia artificial, sendo utilizada como local de lazer pela população.

Alguns parâmetros de qualidade foram avaliados nas amostras e os resultados para esses parâmetros de qualidade de água dos locais estudados estão apresentados na Tabela 4.14.

Tabela 4.14. Resultados de parâmetros de caracterização das amostras de água natural coletadas nas diferentes cidades do Paraná

Amostra	pH	Cloreto (mg L ⁻¹)	SST (mg L ⁻¹)	COD (mg L ⁻¹)
R1	6,5	22,6	24,2	3,1
R2A	6,7	21,7	22,5	4,5
R2B	6,7	19,1	21,4	4,4
R3A	7,3	12,3	27,2	3,4
R3B	7,3	10,2	26,7	3,3
R4	7,1	9,3	19,2	2,7
R5	4,6	36,2	19,3	1,4
R6	5,0	40,2	22,2	3,2
R7	5,5	27,8	19,6	1,5
R8	6,6	88,2	25,9	3,7

Fonte: A autora

A Tabela 4.14 mostra os valores obtidos para alguns parâmetros de caracterização das amostras de água natural coletadas. Como poder ser observado, os valores de pH para as amostras avaliadas variaram na faixa de 4,6 (R5) a 7,3 (R3). Segundo a literatura, o pH pode influenciar nos ambientes aquáticos naturais, contribuindo para a precipitação ou solubilização de elementos químicos tóxicos (elementos traço) e na solubilidade de nutrientes. Dessa forma

foi adotado como critério de proteção à vida aquática o pH na faixa entre 6 e 9 (CETESB, 2016; CONAMA, 347/2005). Na literatura, é relatada a presença de águas superficiais com valores de pH abaixo de 6. Esse comportamento pode ser devido a ocorrência natural ou presença de atividades antrópicas no meio (esgoto doméstico, atividade industrial e agrícola) (DE OLIVEIRA, CAMPOS e MEDEIROS, 2010). Os rejeitos provindos dessas atividades podem alterar as características físico-químicas do meio, diminuindo o pH, por exemplo, podendo indicar que o corpo aquático pode apresentar contaminação.

Os resultados para teor de cloreto (Tabela 4.14) nas amostras de água natural foram diferenciados, sendo na faixa de $9,3 \text{ mg L}^{-1}$ (R4) a $88,18 \text{ mg L}^{-1}$ (R8). Segundo a literatura, as principais fontes de cloreto para águas naturais são a descarga de esgoto doméstico e efluentes industriais tais como, os efluentes obtidos a partir de atividades petrolíferas, farmacêuticas e de curtume (CETESB, 2016). Além disso, a literatura relata que a urina é também uma das fontes principais de cloreto, visto que o ser humano excreta grande parte do cloreto que é ingerido durante a dieta alimentar (GUYTON, 1992). Ainda, os teores de cloreto presentes nas águas superficiais podem ser decorrentes ainda do uso de fertilizantes (cloreto de potássio, cloreto de zinco, etc) e agrotóxicos, na agricultura. Estes, podem entrar em contato com os ambientes aquáticos, por meio do descarte desses fertilizantes ou agrotóxicos, podendo acumular-se nas águas superficiais e tornarem-se fonte de contaminação (DE OLIVEIRA, CAMPOS e MEDEIROS, 2010).

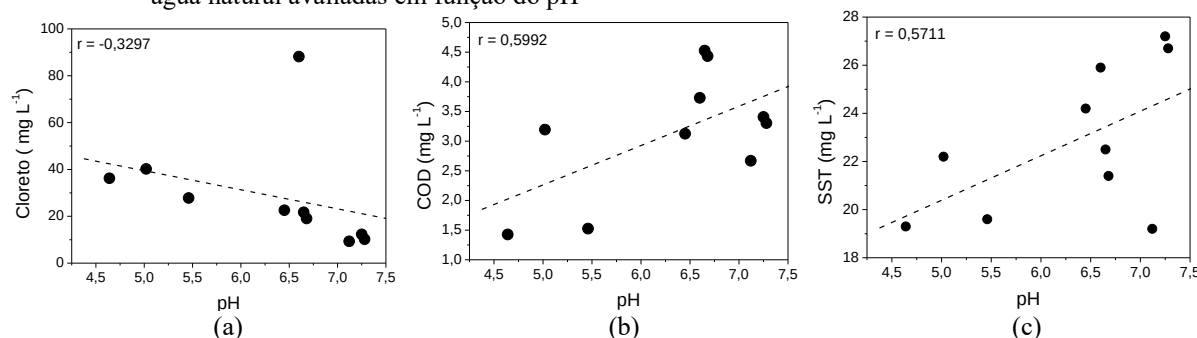
Diante disso, a presença de íons cloreto em amostras de águas pode ser utilizada como um indicador de contaminação antrópica, especialmente por esgoto doméstico e industrial. Assim, foi observado que de forma geral, as amostras avaliadas apresentaram teores de cloreto abaixo do valor máximo de $250,0 \text{ mg L}^{-1}$, descrito na Resolução do CONAMA (357/2005) para classificação de corpos de água. Em estudos descritos na literatura foram encontrados valores para Cl^- em águas superficiais do Paraná, na faixa de $0,1$ a $18,0 \text{ mg L}^{-1}$ e do Brasil, na faixa de $0,08$ a $87,9 \text{ mg L}^{-1}$ (DA ROSA FILHO, 2012; RIBEIRO, SANDRI e BOÊNO, 2013; VITÓ et al., 2016).

A Tabela 4.14 apresenta ainda os resultados para SST e COD, sendo na faixa de $19,2 \text{ mg L}^{-1}$ (R4) a $27,2 \text{ mg L}^{-1}$ (R3A) e $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ (R5) a $4,5 \text{ mg L}^{-1}$ (R2A), respectivamente. Para SST determinado nas amostras foi observada uma proximidade entre os valores. No entanto, para COD os valores foram inferiores para as amostras R5 e R7 coletadas em Ponta Grossa em comparação com as demais amostras coletadas. De acordo com a literatura o a matéria orgânica dissolvida presente em águas superficiais é expressa como COD. A presença de matéria orgânica nesses ambientes deve-se às relações entre os processos de fotossíntese, metabolismo

de organismos, bem como condições externas (STUMM e MORGAN, 1996). Além disso, o teor de COD nas amostras também pode ser um indicativo de presença de efluentes no ambiente aquático. Dessa forma, as diferenças observadas nas amostras em relação ao teor de COD, pode estar associada à composição natural da amostra, bem como a presença de atividades antrópicas.

A avaliação do efeito do pH em relação à presença de cloreto, COD e SST nas amostras de água natural foi realizada e está apresentada na Figura 4.14.

Figura 4.14. Relação entre os parâmetros concentrações de (a) íons cloreto, (b) COD e (c) SST nas amostras de água natural avaliadas em função do pH



Fonte: A autora

A Figura 4.14, mostra a relação entre o pH e alguns fatores tais como a concentração de cloreto, COD e SST encontrada nas amostras estudadas. De um modo geral, foi possível verificar que a relação entre o pH e os teores de cloreto nas amostras foi decrescente e a relação entre o pH e os teores de carbono orgânico dissolvido e sólidos suspensos totais, foi crescente. O fato das amostras que apresentaram menores valores de pH e maiores concentrações de cloreto (Figura 4.14a), pode estar relacionado com a origem geológica ou antrópica. Segundo a literatura, a presença de íons cloreto em água superficiais, pode ser decorrente da lixiviação de rochas, esgotos domésticos e industriais, como comentado anteriormente (PIRATOBA et al., 2017). Dessa forma, a presença de baixos valores de pH e maiores concentrações de cloreto nas amostras, poderia sugerir uma influência de aporte de efluente industrial, esgoto doméstico ou descarte de fertilizantes (DE OLIVEIRA, CAMPOS e MEDEIROS, 2010; KALČÍKOVÁ et al., 2016). No entanto, a avaliação desse parâmetro, depende de outros fatores. Seria esperando que, a presença de esgoto doméstico e outras atividades antrópicas resultasse em um aumento de matéria orgânica no ambiente aquático. Como observado as amostras com menor pH, obtiveram as menores concentração de COD (Figura 4.14b) e SST (Figura 4.14c). A matéria orgânica natural (atividade geológica e hidrológica, atividade microbiológica e algas) ou proveniente de atividades antrópicas (industriais, domésticas e agricultura), pode ocorrer como matéria orgânica dissolvida ou coloidal (HAITZER et al., 1998; MENG et al., 2013). Em águas

superficiais, está presente, principalmente como substâncias húmicas (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humin), os quais constituem uma fração considerável do carbono orgânico total (TOC) presente no meio (GENÇ-FUHRMAN, MIKKELSEN e LEDIN, 2016). A solubilidade dessas substâncias em água depende do pH. Os ácidos húmicos não são solúveis em pH menor que 2,0, sendo solúveis em condições mais alcalinas, os ácidos fúlvicos são solúveis em todos os valores de pH e o humin é insolúvel em todos os valores de pH (MICHAEL-KORDATOU et al., 2015). Assim, a matéria orgânica, presente em toda a faixa de pH, como os ácidos húmicos, reduzem facilmente o Cr(VI) a Cr(III), sendo que o ácido húmico apresenta ainda predisposição para formar complexos com espécies de Cr(III), em pH baixo (BARTLETT, 1991; GENÇ-FUHRMAN, MIKKELSEN e LEDIN, 2016; MASSCHELEYN et al., 1992). No caso do SST, o pH apresenta influência na superfície dos sólidos suspensos no ambiente aquático, fato este, que interfere nos processos de adsorção de metais pelo material particulado. Além disso, outros fatores são importantes, tais como os grupos funcionais presentes nas superfícies das partículas e a complexação destes elementos em solução. Dessa forma, a partição dos metais no meio aquático é influenciada pela presença de matéria orgânica particulada (GRASSI, SHI e ALLEN, 2000). Segundo a literatura, as superfícies das partículas em meio aquático apresentam cargas distintas com a variação do pH. Em pH de águas naturais, o grupo $\equiv\text{S-OH}$ (grupo funcional de substâncias húmicas ligadas as superfícies das partículas) predomina como espécie representativa de partículas. Dessa forma, o pH é um dos fatores mais importantes no controle dos processos de adsorção de metais em partículas suspensas em meio aquático. É esperado que a superfície das partículas apresente carga mais positiva, em valores de pH menores. Assim, existe competição dos íons de hidrogênio para os locais de ligação, levando a dessorção dos metais a baixos valores de pH, sendo assim, a adsorção do metal em material particulado, desfavorável nessa região de pH (GRASSI, SHI e ALLEN, 2000).

Diante dessas características, observa-se na Tabela 4.14, que as amostras coletadas em Ponta Grossa (R5 a R7) apresentaram os menores valores de pH e concentrações mais elevadas de íons Cl^- . As amostras R5 e R7 apresentaram ainda menores valores de COD e SST, enquanto a amostra R6 apresentou concentrações um pouco superiores desses parâmetros. Segundo informações referentes ao local, o corpo aquático apresenta impactação ambiental. Esse fato poderia indicar um aporte de efluentes no meio, o que influencia nas características físico-químicas da água natural estudada. As demais amostras apresentaram valores de pH condizente com os valores de pH de águas naturais pelo CONAMA (6,0 a 9,0). No entanto, R8 apresentou as maiores concentrações de íons cloreto. As amostras R3 e R8 apresentaram concentrações um pouco superior de SST em relação as demais amostras. Enquanto, as amostras R2 e R8

apresentaram concentrações superiores de COD.

Dessa forma, de um modo geral, observa-se que os rios R5 a R8, apresentam uma maior impactação ambiental, enquanto o rio R4 apresentou a menor impactação. Essas observações condizem com as características observadas nos locais de coleta.

Com relação aos teores de cromo nessas amostras, foram determinadas as concentrações de Cr(total) nas amostras *in natura* e Cr(total) dissolvido nas amostras filtradas em membranas 0,45 µm de porosidade. Por diferença foram obtidas as concentrações de cromo associado ao material particulado. Porém, esses teores foram corrigidos em função da concentração de sólidos suspensos totais. Nas amostras filtradas, ainda foram determinados os teores de Cr(III) e Cr(VI). A Tabela 4.15, mostra os resultados obtidos para os teores de Cr nas amostras de água natural.

Tabela 4.15. Concentração de Cr nas amostras de água natural coletadas na região do Paraná

Amostra	Cr(total) (µg L ⁻¹)	Cr(total) dissolvido (µg L ⁻¹)	Cr particulado		Cr(VI)		Cr(III)	
			(mg kg ⁻¹)	(%)*	(µg L ⁻¹)	(%)*	(µg L ⁻¹)	(%)*
R1	0,32±0,027	0,27±0,017	2,27	17,0	0,242±0,005	75,2	0,025	7,8
R2A	0,456±0,009	0,41±0,011	2,09	10,3	0,30±0,015	65,1	0,112	24,6
R2B	0,436±0,009	0,399±0,002	1,75	8,5	0,24±0,035	55,7	0,156	35,8
R3A	0,45±0,046	0,369±0,005	2,85	17,3	0,21±0,029	47,3	0,158	35,4
R3B	0,44±0,046	0,354±0,006	3,09	18,8	0,24±0,028	53,9	0,119	27,3
R4	0,33±0,027	0,329±0,004	0,18	0,9	0,22±0,029	65,4	0,112	33,7
R5	0,58±0,046	0,33±0,011	12,67	42,2	0,20±0,010	35,1	0,131	22,7
R6	0,53±0,055	0,263±0,008	12,14	50,6	0,25±0,030	46,6	0,015	2,8
R7	0,51±0,055	0,37±0,018	7,24	28,0	0,31±0,020	60,2	0,060	11,8
R8	0,72±0,064	0,396±0,002	12,49	44,9	0,25±0,011	35,2	0,143	19,9

*Distribuição de Cr em relação à concentração de Cr(total) presente nas amostras

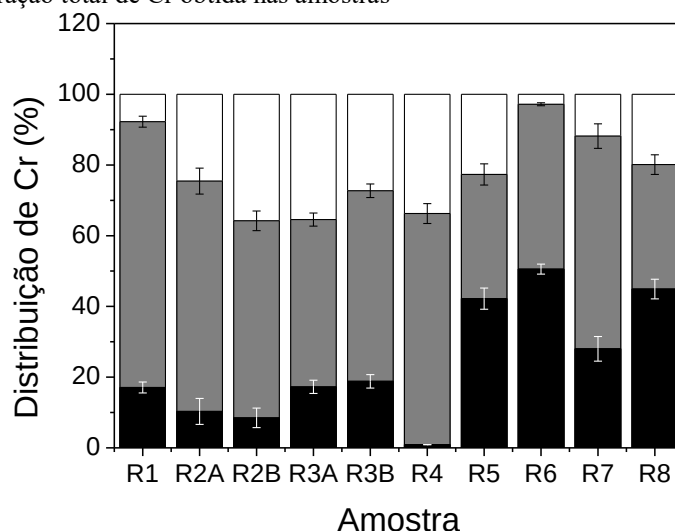
Fonte: A autora

Com relação a Tabela 4.15, é possível observar que os teores de Cr(total) presente nas amostras foram baixos, menores que 1,0 µg L⁻¹. Além disso, nota-se que uma pequena variação entre as amostras. Como pode ser observado, as amostras apresentaram concentração de Cr(total) na faixa de 0,322 a 0,719 µg L⁻¹, em que as amostras R5 a R8 apresentaram as maiores concentrações de Cr(total) (0,507 a 0,719 µg L⁻¹). As amostras R5 a R7, são de águas superficiais com valores de pH menores, indicando nessas amostras uma possível influência de atividades antrópicas. A amostra R1, coletada na saída de um curtume desativado, apresentou uma concentração menor de Cr(total) em relação às demais amostras. Sugere-se que, como as atividades do curtume foram cessadas a aproximadamente 3 anos, o Cr presente na água pode ter sido depositado junto ao sedimento do rio. Os teores de Cr para água natural, encontrados na literatura foram de 0,38 a 43,0 µg L⁻¹ (FLEM et al., 2017; MAJIDI, B.; SHEMIRANI, 2012; NAGHMUSH et al., 1994; ZHENG et al., 2016; ZHU et al., 2005). De acordo com o CONAMA

(357/2005), esses rios são classificados como rios pertencentes à classe 2 e espera-se que o teor de cromo seja inferior à $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Como observado, os teores de Cr obtidos nas amostras foram condizentes com a classificação dos corpos aquáticos pertencentes à classe 2, como descrito pelo Conama.

A concentração de Cr(total) dissolvido foi determinada nas amostras, variando de $0,263$ a $0,409 \mu\text{g L}^{-1}$. Em relação ao Cr particulado foi observado uma faixa de $0,18$ a $12,67 \text{ mg kg}^{-1}$ nas amostras avaliadas, sendo que as amostras de R5 a R8 apresentaram maiores frações de Cr no material particulado ($7,24$ a $12,67 \text{ mg kg}^{-1}$). A partir dos dados de concentração de Cr(total), Cr dissolvido e Cr particulado, pode-se construir um gráfico que mostra a distribuição do Cr na fração particulada e dissolvida (Figura 4.15).

Figura 4.15. Distribuição de (■) Cr(VI), (□) Cr(III) e (■) Cr particulado nas amostras de água natural, em relação à concentração total de Cr obtida nas amostras



Fonte: A autora

Como observado na Figura 4.15 as amostras de água superficial coletas em rios do Paraná apresentaram distribuição de Cr diferenciado nas amostras avaliadas. De um modo geral, o Cr encontra-se majoritariamente na fração dissolvida, sob a forma de Cr(VI).

Foi possível verificar que a concentração de Cr(dissolvido) foi majoritária em 09 amostras de água natural em relação à concentração total de Cr, representando 55 a 99% do total. Apenas a amostra do Rio São Jorge (Ponta Grossa), denominada como R6 apresentou uma menor porcentagem de Cr na fração dissolvida (49 % do total).

Na fração dissolvida, a espécie majoritária foi o Cr(VI), representando 35,1% (R5) a 75,2% (R1) do teor total. Em relação a fração dissolvida, o Cr(VI) representa de 57,2 a 94,3%. Sabe-se que esse elemento é mais tóxico, apresenta maior biodisponibilidade e maior

mobilidade em relação ao Cr(III). Segundo a literatura, o Cr hexavalente é encontrado em ambientes aquáticos sob condições óxicas, pois Cr(III) apresenta tendência em ser adsorvido pelo material particulado. No entanto, o Cr(III) também pode ser encontrado devido a reações de redução do Cr(VI) (microbiológica, química e fotoquímica), presença da matéria orgânica dissolvida e outros ligantes orgânicos (COSTA et al., 2008; KOTAŚ e STASICKA, 2000). Além disso, o Cr(III) pode ser facilmente oxidado a Cr(VI) em presença de óxido de manganês (KOTAŚ e STASICKA, 2000).

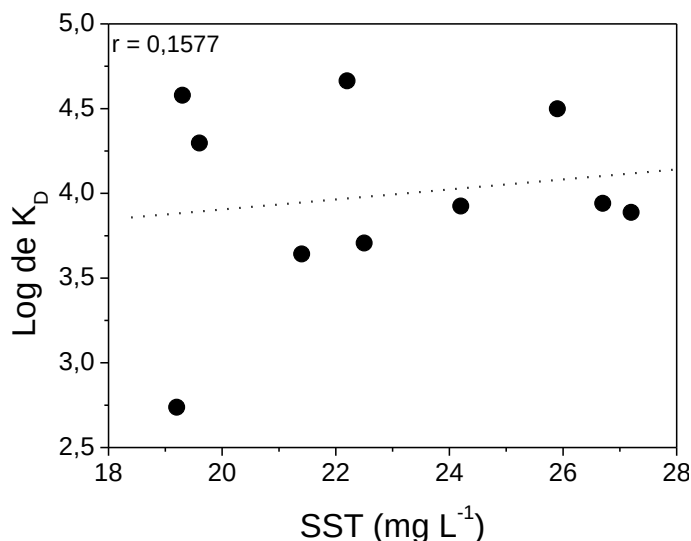
Assim, pode-se observar que a presença e comportamento de Cr nas amostras de água natural, pode estar relacionada com a composição das amostras (SST, teor de cloreto e COD) bem como ao pH e fatores externos (esgoto doméstico, atividade industrial, entre outros) (KOTAŚ e STASICKA, 2000). Diante disso relações foram estabelecidas de modo compreender o comportamento observado nas amostras.

Com os dados de cromo associado ao material particulado e na fração dissolvida foram determinados os valores dos coeficientes de distribuição ou partição (K_D). Os valores de K_D ($L\ kg^{-1}$) foram obtidos segundo a equação 4.8 (SCHEFFER, SODRÉ e GRASSI, 2007):

$$K_D = \frac{C_p}{C_d} \quad (4.8)$$

Na Equação, C_p representa a concentração do analito no material particulado ($mg\ kg^{-1}$) e C_d é a concentração do analito na fase dissolvida ($mg\ L^{-1}$). Segundo a literatura, a distribuição dos elementos nas fases particulada e em solução depende de vários fatores, tais como o pH e concentração de material particulado (SCHEFFER, SODRÉ e GRASSI, 2007). Assim, com os resultados foi construído o gráfico de K_D em função dos teores de SST presente nas amostras, como mostrado na Figura 4.16.

Figura 4.16. Gráfico do log de K_D por teor de sólidos suspensos totais (SST) nas amostras de água natural avaliadas



Fonte: A autora

A Figura 4.16 mostra a relação entre o log de K_D e a concentração de SST nas amostras avaliadas. Foi possível verificar que o logaritmo dos coeficientes de partição variou de 2,74 a 4,66 para as amostras de água natural avaliadas com valores de SST na faixa de 9,31 a 88,18 mg L⁻¹. De uma forma geral foi observada uma relação crescente entre o logaritmo do coeficiente de partição e o teor de material particulado. Isso pode indicar que ocorre um pequeno aumento da associação do Cr com o aumento do material particulado nas águas dos rios avaliados. Esse tipo de comportamento é esperado, uma vez que espera um aumento no teor de material particulado proporcione uma maior associação do metal com os sólidos em suspensão. Contudo, o comportamento inverso também é descrito, devido ao efeito de concentração de partícula (ECP). Este efeito é uma diminuição inesperada nos coeficientes de partição (K_D), com o aumento das partículas suspensas, fato este, decorrente de vários fatores. Entre esses fatores, pode-se atribuir esse comportamento à existência de formas coloidais do adsorvato na fração dissolvida ao realizar o cálculo de K_D (BENOIT e ROZAN et al., 1999).

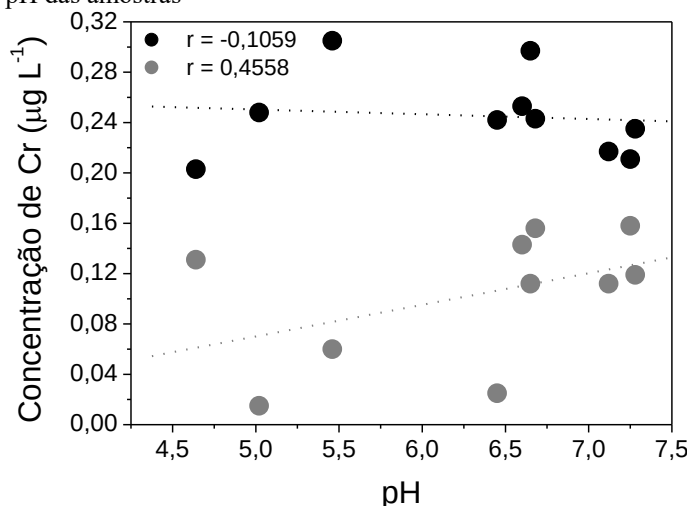
Os valores de K_D foram calculados ainda usando as espécies de Cr(III) e foi construído o gráfico de Log de K_D por SST. O comportamento foi semelhante ao observado anteriormente usando as concentrações totais de Cr, indicando a associação do metal com os sólidos em suspensão.

Portanto, observa-se que a interação do Cr com o material particulado, é dependente de vários fatores (pH, matéria orgânica, entre outros). Dessa forma, quanto maior a associação do elemento com a matéria orgânica, menor a labilidade deste elemento no meio aquático.

Com relação à presença de Cr nas amostras, foi verificado o comportamento das

espécies de Cr(III) e Cr(VI) nas amostras em função do pH. A Figura 4.17 mostra o comportamento do Cr(III) e Cr(VI) nas amostras de água natural em função do pH.

Figura 4.17. Comportamento das espécies de (●) Cr(III) e (●) Cr(VI) nas amostras de água natural avaliadas, em função do pH das amostras



Fonte: A autora

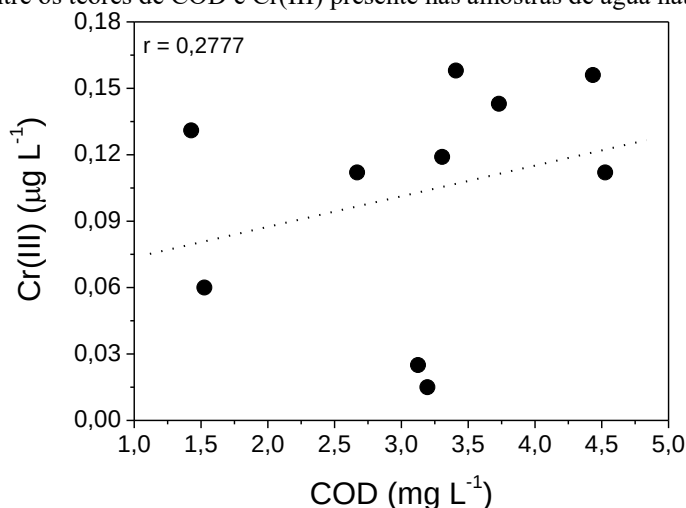
Como pode ser observado na Figura 4.17, as espécies de Cr nas amostras apresentaram um comportamento diferenciado dependente do pH do meio. Para Cr(VI) foi observado que as amostras não apresentam, tendência (crescente ou decrescente), sendo observado a presença de Cr(VI) em toda a faixa de pH compreendida para as amostras. No entanto, para Cr(III) foi observado uma tendência crescente, em que as amostras de maior pH apresentaram concentrações maiores de Cr. Em baixo pH, as espécies de Cr(III) são catiônicas (Cr^{3+} e CrOH^{2+}), de pH 6,0 a 12,0, predomina o $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$ e acima de pH 12,0, o $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$ é convertido à $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$. Já o Cr(VI), em baixo pH ($<1,0$) ocorre como H_2CrO_4 , em pH ácido (1,0 a 6,5) ocorre como espécies aniônicas (HCrO_4^- e $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), e acima de 6,5 ocorre com CrO_4^{2-} (GENÇ-FUHRMAN, MIKKELSEN e LEDIN, 2016; MARKIEWICZ et al., 2015).

Esse fato pode ser explicado pela presença de matéria orgânica em algumas amostras. É conhecido que Cr(III) ocorre sob condições anóxicas ou subóxicas, enquanto Cr(VI) está presente em águas naturais oxigenadas (KOTAŚ e STASICKA, 2000). No entanto é relatado na literatura que quantidades significativas de Cr(III) foram encontradas em águas superficiais oxigenadas (KACZYNSKI e KLEBER, 1993; KALČÍKOVÁ et al, 2016). Isso ocorreu devido à interconversão de Cr(VI) para Cr(III), sendo a presença e a relação entre ambos os estados de oxidação, afetados não somente pela concentração de oxigênio no meio, mas também por outros fatores naturais tais como a matéria orgânica presente no ambiente aquático (BARTLETT,

1991; KOTAŚ e STASICKA, 2000). A matéria orgânica natural pode ocorrer como matéria orgânica dissolvida ou coloidal (HAITZER et al., 1998). A origem da matéria orgânica pode ser natural (pela atividade geológica e hidrológica, atividade microbiológica e algas) e ainda decorrente de atividades antrópicas, tais como atividades industriais, domésticas e agricultura (MENG et al., 2013). Segundo a literatura, a matéria orgânica está presente nas águas naturais, principalmente como substâncias húmicas, tais como ácidos húmicos (HA), ácidos fúlvicos (FA) e humin, os quais constituem uma fração considerável do carbono orgânico total (TOC) presente no meio (GENÇ-FUHRMAN, MIKKELSEN e LEDIN, 2016). Como comentado anteriormente a solubilidade dessas substâncias em água é diferenciada. Os ácidos húmicos não são solúveis em pH menores que 2,0, sendo solúveis em condições mais alcalinas, os ácidos fúlvicos são solúveis em todos os valores de pH e o humin é insolúvel em todos os valores de pH (MICHAEL-KORDATOU et al., 2015). Assim, matéria orgânica, como os ácidos húmicos atuam, reduzindo facilmente o Cr(VI) a Cr(III), sendo que o ácido húmico apresenta ainda predisposição para formar complexos com espécies de Cr(III), em pH baixo (BARTLETT, 1991; GENÇ-FUHRMAN, MIKKELSEN e LEDIN, 2016; MASSCHELEYN et al., 1992).

Dessa forma um gráfico para verificar o comportamento de Cr(III) em função da concentração de COD foi construído, sendo apresentado na Figura 4.18.

Figura 4.18. Relação entre os teores de COD e Cr(III) presente nas amostras de água natural avaliadas



Fonte: A autora

A Figura 4.18 mostra o comportamento de Cr(III) em função das concentrações de COD encontradas nas amostras de água natural avaliadas. Como é possível observar, existe uma tendência crescente entre esses dois fatores, em que amostras que contém maior concentração de COD, e por assim, uma maior quantidade de matéria orgânica, apresentaram ainda uma

maior concentração de Cr(III). Esse resultado reforça as observações citadas anteriormente (Figura 4.17).

Dessa forma, visando compreender as relações entre os teores de Cr obtidos nas amostras, e relacioná-los com as características das amostras, uma análise de componentes principais foi realizada.

A análise de componentes principais, do inglês *Principal Components Analysis* (PCA) é uma ferramenta quimiométrica que transforma os dados multivariados em novas variáveis ortogonais, maximizando assim, suas variâncias. Dessa forma, os dados transformados estão projetados em duas ou três dimensões para facilitar o reconhecimento de tendências sistemáticas. Os dados experimentais são projetados dentro de coordenadas 2D ou 3D, que correspondem aos gráficos de escores, mostrando a relação entre esses valores experimentais. Os grupos de valores que são formados no gráfico de escores podem ser usados na classificação/separação de amostras com dados similares (MINGOTI, 2005). Dessa forma, por meio da PCA busca-se simplificar ou facilitar a interpretação dos fatores estudados, pela construção de variáveis alternativas que sintetizem a informação original dos dados. Além disso, permite agrupar elementos que apresentam similaridade entre si e analisar as relações entre as variáveis que estão associadas ao fator estudado (MINGOTI, 2005).

Dessa forma, uma análise multivariada, pela aplicação da PCA aos dados de concentração de Cr obtidos para as amostras de água natural avaliadas foi realizada buscando correlacionar com as características das amostras (pH, Cl⁻, SST e COD). Os resultados da PCA são apresentados como escores. Estes caracterizam os principais padrões de concentrações no conjunto de dados que são analisados e sua variância explicada. A obtenção de escores positivos e negativos elevados permite verificar quais variáveis são importantes para o PC que está sendo avaliado. Os resultados para os escores das variáveis referentes a PC1 e PC2 e as correlações, estão apresentadas na Tabela 4.16.

Tabela 4.16. Escores das variáveis pH, íons Cl^- , SST, COD, Cr(total), Cr(total) dissolvido, Cr particulado, Cr(VI), Cr(III)

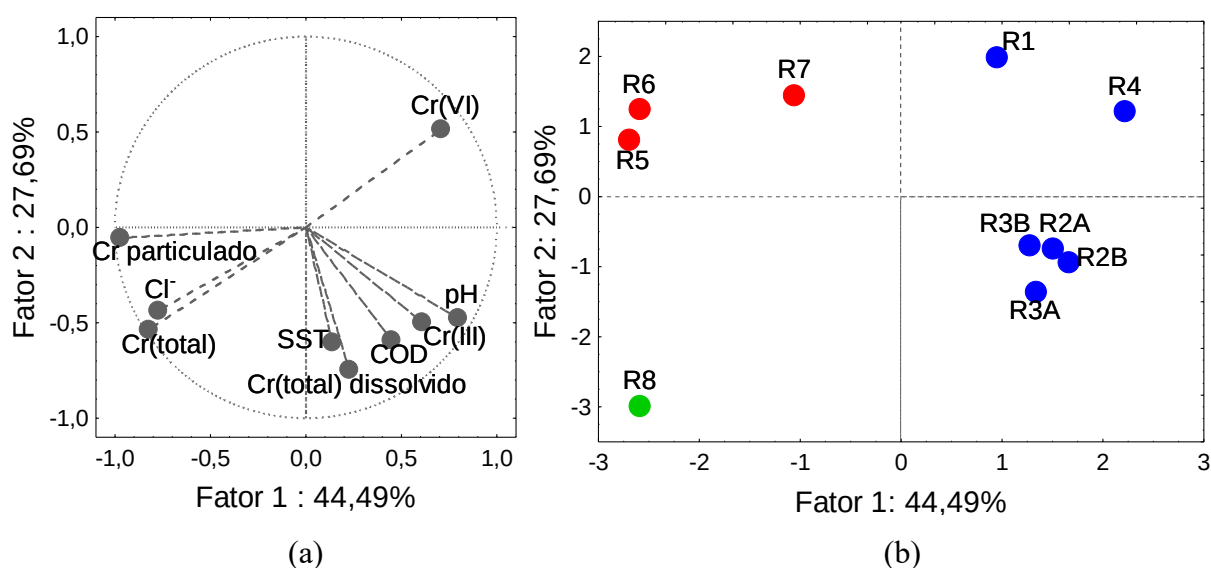
Variáveis	CP1	CP2
pH	0,796535	-0,473626
Íons Cl^-	-0,771320	-0,437551
SST	0,140713	-0,604596
COD	0,446490	-0,588455
Cr(total)	-0,825257	-0,536872
Cr(total) dissolvido	0,226759	-0,748248
Cr particulado	-0,972436	-0,055506
Cr(VI)	0,710151	0,514099
Cr(III)	0,611051	-0,498923

Fonte: A autora

O primeiro componente (PC1) mostra que as concentrações de Cr(total) dissolvido, Cr(III) e Cr(VI) estão diretamente correlacionadas com o pH e com as concentrações de COD e SST e inversamente correlacionadas com as concentrações de Cr(total), Cr particulado e concentração de Cl^- . Enquanto a PC2 mostra uma correlação direta entre concentrações de Cr(total), Cr(total) dissolvido, Cr(III), Cr particulado, COD, SST, Cl^- e o pH, e uma correlação inversa com a concentrações de Cr(VI). As correlações abaixo de 0,5 são fracas, entre 0,5 e 0,7 são moderadas e acima de 0,7 são fortes.

A Figura 4.19 apresenta o gráfico de pesos e o gráfico de escores, respectivamente, para as duas primeiras componentes principais (PC1 e PC2), para as 10 amostras de água natural avaliadas.

Figura 4.19. (a) Gráfico de pesos e (b) gráfico de escores para a PC1 e PC2 obtidas com a análise multivariada dos dados para água natural



Fonte: A autora

Nota: As amostras R2A e R2B são coletas de um mesmo ponto em períodos diferentes; As amostras R3A e R3B são coletas de um mesmo ponto em períodos diferentes

Legenda: Pontos de coleta em (●) Guarapuava, (●) Ponta Grossa e (●) Santa Terezinha de Itaipu

Como pode ser observado na Figura 4.19a, entre os componentes principais a 1ª e 2ª PC foram responsáveis por explicar 72,18% de toda a variância nos dados, considerando que a 1ª componente explicou 44,49% das relações existentes entre as amostras de acordo com as variáveis estudadas e a 2ª componente explicou 27,69%.

Avaliando-se as amostras (Figura 4.19b), foi possível observar pela PC1, que as amostras de R1 a R4 se agruparam nos quadrantes positivos de X. As amostras R1 e R4 (quadrante positivo de X e Y) são explicadas pela maior concentração de Cr(VI) presente no meio. Essas amostras são de Guarapuava e são distantes entre si. A amostra R1, é uma amostra de água coletada em curtume desativado, o que justificaria a relação direta com o Cr(VI), como esperado. A amostra R4, é um ponto de coleta em uma região rural, cujo local é usado para lazer. As amostras R2 e R3 estão no quadrante positivo de X e negativo de Y, sendo observada uma correlação de Cr(III) e Cr(total) dissolvido com o pH e as concentrações de COD e SST. Esse fato corrobora os resultados apresentados anteriormente, salientando o fato da presença de Cr(III) estar relacionada com maiores valores de pH e maiores concentrações de COD.

Pela PC1, no quadrante negativo de X foram observados o agrupamento das amostras de R5 a R8. O primeiro agrupamento foi para as amostras R5, R6 e R7, no quadrante positivo de Y e negativo de X. Essas amostras são providas da mesma cidade, porém rios diferentes, e como observado (Figura 4.19b) estão em um quadrante oposto ao quadrante positivo de X e negativo de Y, apresentando, dessa forma, concentrações menores de Cr(III) e Cr(total) dissolvido, bem como, os menores valores de pH e baixas concentrações de COD e SST. Já a amostra R8, está localizada no quadrante negativo de X e Y, apresentando uma correlação entre as concentrações de Cr(total), Cr particulado e concentração de íons Cl^- . Essa amostra apresenta a maior concentração de cloreto. Segundo a literatura, concentrações elevadas de cloreto em ambientes aquáticos é indício de processo de contaminação descarga de esgoto doméstico e efluentes industriais tais como, os efluentes obtidos a partir de atividades petrolíferas, farmacêuticas e de curtume (CETESB, 2016).

Dessa forma, foi possível observar de um modo geral, que a distribuição de Cr em ambientes aquáticos é dependente de vários fatores, tanto da origem dos efluentes ou rejeitos que são descartados nas águas naturais, bem como às características das águas superficiais (pH, COD, SST, Cl^-). Esses dois fatores estão diretamente correlacionados, visto que, os rejeitos químicos descartados no ambiente aquático modificam as características do meio (pH, Cl^- , entre outros), modificando o comportamento das espécies do elemento no meio.

Portanto, de uma forma geral, as águas superficiais avaliadas apresentam parâmetros físicos químicos de acordo com a classificação de rios pelo CONAMA. Além disso, as

concentrações de Cr determinadas foram baixas. No entanto, a espécie majoritária de Cr nos ambientes aquáticos avaliados foi o Cr(VI), a espécie mais tóxica. Isso mostra que é necessário monitorar os níveis totais de Cr e avaliar a especiação deste elemento, como uma forma de garantir a segurança social e ambiental. Além disso, os estudos mostram a importância da inserção das informações referentes a especiação, nas legislações, visto que as legislações ainda são baseadas nas concentrações totais dos elementos.

CONCLUSÕES

No presente trabalho foi possível empregar as técnicas de extração por ponto nuvem e microextração por emulsificação assistida por ultrassom, previamente otimizadas e validadas, para especiação de Sb e Cr em amostras de água mineral e natural. Os métodos se mostraram adequados e confiáveis para avaliação das concentrações desses elementos e sua especiação, em água mineral envasada e ambientes aquáticos. Além disso, esses procedimentos apresentam baixo custo para análise, minimização de resíduos, e boa frequência analítica, fatores estes, importantes para implementação de metodologias que atendam aos princípios da química verde.

Com relação a especiação de Sb por EPN, foi possível avaliar a presença e especiação deste elemento em amostras de água mineral envasada. Como observado no estudo, as amostras de água mineral envasada em PET, apresentaram em sua maioria, concentrações abaixo do limite estabelecido pela legislação brasileira. No entanto, algumas amostras apresentaram concentrações acima desse limite. Como se sabe, a legislação ainda é voltada para determinação das concentrações totais desses elementos. Isso se deve ao fato da análise de especiação ser ainda um desafio no âmbito analítico e ambiental. O desafio de se estudar especiação de elementos está relacionado, entre outros fatores, com a falta de um padrão em relação a concentrações totais dos elementos traço no ambiente aquático. Soma-se também o fato de não existir ainda uma metodologia padrão para especiação de elementos em amostras ambientais, bem como, aos estudos de especiação serem realizados para espécies individuais e não para sistemas de misturas, visto que não são encontradas separadamente no ambiente e sim em uma composição variável.

Os resultados mostraram ainda que no estudo de especiação de Sb, a espécie mais tóxica, o Sb(III), foi majoritária. Dessa forma, observa-se que o uso do PET como material para embalagens de envase podem reduzir a qualidade da água mineral brasileira, já que a espécie mais tóxica (Sb(III)) foi lixiviada. Assim, deveria ser encorajado o desenvolvimento de estudos de outros catalisadores em substituição ao Sb_2O_3 , para minimizar os potenciais efeitos tóxicos associados à presença de Sb pela lixiviação a partir da embalagem PET, e um maior controle quanto à estocagem adequada das embalagens.

Com relação à especiação de Cr por UAEME, foi possível avaliar a presença e especiação deste elemento em água mineral engarrafada e águas naturais. Os estudos mostram que para ambas as matrizes as concentrações de Cr foram abaixo do limite estabelecido pela legislação. Observa-se ainda que, a distribuição das espécies de Cr nas amostras foi diferenciada, sendo que a espécie predominante nas amostras de água mineral envasada foi

Cr(III), e nas águas naturais o Cr(VI) foi majoritário. Assim, de um modo geral, observa-se que as amostras de água mineral e natural avaliadas, apresentaram baixas concentrações desse elemento.

Nesse contexto apresentado, o trabalho mostra um avanço em relação às informações/dados referentes à especiação de Sb e Cr em águas minerais brasileiras, e águas naturais da região sul do Brasil. Os resultados mostraram ainda a importância de se avaliar a especiação desses elementos em ambientes aquáticos, incentivando a realização de novos estudos da presença e especiação de Sb e Cr em águas brasileiras naturais e engarrafadas. Pode-se ressaltar ainda que para uma avaliação mais ampla em relação à presença e especiação desses elementos, um avanço no estudo toxicológico dos elementos torna-se uma questão de relevância, como forma de compreender e estabelecer padrões para os limites máximos das legislações. Em adição, é encorajado o uso de técnicas de extração e quantificação confiáveis, economicamente viáveis e ambientalmente corretas, para especiação desses elementos.

REFERÊNCIAS

- ABBASSE, G.; OUDDANE, B.; FISCHER, J. C. Determination of trace metal complexes by natural organic and inorganic ligands in coastal seawater. **Analytical Sciences**, v.19, p. 529-535, 2003.
- ADAPAR, **Agência de Defesa Agropecuária do Paraná**. Disponível em: <<http://www.adapar.pr.gov.br>>. Acesso em: 5 de dezembro de 2017.
- AHARCHAOU, I.; ROSABAL, M.; LIU, F.; BATTAGLIA, E.; VIGNATI, D. A. L.; FORTIN, C. Bioaccumulation and subcellular partitioning of Cr(III) and Cr(VI) in the freshwater green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. **Aquatic Toxicology**, v. 182, p. 49-57, 2017.
- AIKEN, G. R.; HSU-KIM, H.; RYAN, J. N. Influence of dissolved organic matter on the environmental fate of metals, nanoparticles, and colloids. **Environmental Science & Technology**, v. 45, p. 3196-3201, 2011.
- AKBAS, H.; BATIGÖC, C. Spectrometric studies on the cloud points of Triton X-405. **Fluid Phase Equilibria**, v. 279, p. 115-119, 2009.
- AL-SAIDI, H. M.; EMARA, A. A. A. The recent developments in dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and determination of inorganic analytes. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, p. 745-761, 2014.
- ALTUNAY, N.; GURKAN, R. A new cloud point extraction procedure for determination of inorganic antimony species in beverages and biological samples by flame atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 175, p. 507-515, 2015.
- ALTUNAY, N.; GÜRKAN, R. Separation/preconcentration of ultra-trace levels of inorganic Sb and Se from different sample matrices by charge transfer sensitized ion-pairing using ultrasonic-assisted cloud point extraction prior to their speciation and determination by hydride generation AAS. **Talanta**, v. 159, p. 344-355, 2016.
- ANDRA, S. S.; MAKRIS, K. C.; SHINE, J. P.; LU, C. Co-leaching of brominated compounds and antimony from bottled water. **Environment International**, v. 38, p. 45-53, 2012.
- ANDRUCH, V.; BALOGH, I.; KOCÚROVÁ, L.; SANDREJOVÁ, J. Five years of dispersive liquid-liquid microextraction. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 48, p. 161-259, 2013.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, **Official methods of analysis of AOAC**, 19th Appendix F Washington, 2012.
- APHA, **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 20th ed. Washington, 1998.
- ARAUJO, P. Key aspects of analytical method validation and evaluation. **Journal of Chromatography Part B**, v. 877, p. 2224-2234, 2009.

AZIZITORGHABEH, A.; RASHCHI, F.; BABAKHANI, A. Stoichiometry and structural studies of Fe(III) and Zn(II) solvent extraction using D2EHPA/TBP. **Separation and Purification Technology**, v. 171, p. 197-205, 2016.

BACH, C.; DAUCHY, X.; CHAGNON, M.; ETIENNE, S. Chemical compounds and toxicological assessments of drinking water stored in polyethylene terephthalate (PET) bottles: A source of controversy reviewed. **Water Research**, v. 46, p. 571-583, 2012.

BACH, C.; DAUCHY, X.; SEVERIN, I.; MUNOZ, J.; ETIENNE, S.; CHAGNON, M. Effect of sunlight exposure on the release of intentionally and/or non-intentionally added substances from polyethylene terephthalate (PET) bottles into water: Chemical analysis and in vitro toxicity. **Food Chemistry**, v.162, p. 63–71, 2014.

BAHADIR, Z.; BULUT, V. N.; HIDALGO, M.; SOYLAK, M.; MARGUÍ, E. Cr speciation in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with total reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 115, p. 46-51, 2016.

BARROS NETO, B. de; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. 3 ed. Campinas, São Paulo: Editora da Unicamp, 2007.

BARTLETT, R. J. Chromium cycling in soils and water e links, gaps, and methods. **Environmental Health Perspectives**, v. 92, p. 17-24, 1991.

BENOIT, G.; ROZAN, T. F. The influence of size distribution on the particle concentration effect and trace metal partitioning in rivers. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 63, p. 113-127, 1999.

BfR. **Recommendation of the Federal Institute of Risk Assessment**, 2011.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária RE nº 899, de 29 de maio de 2003. 2003.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Regulamento técnico para águas envasadas e gelo**. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC nº 274, de 22 de setembro de 2005. 2005.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Regulamento técnico: Critérios gerais para embalagens e equipamentos em contato com alimentos**. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC nº 91, de 11 de maio de 2001. 2001.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Regulamento técnico: Sobre corantes em embalagens e equipamentos plásticos destinados a estar em contato com alimentos**. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC nº 52, de 26 de novembro de 2010. 2010.

CADORE, S.; MATOSO, É.; SANTOS, M. C. A espectrometria atômica e a determinação de elementos metálicos em material polimérico. **Química Nova**, v. 31, p. 1533-1542, 2008.

CAMPILLO, N.; VIÑAS, P.; ŠANDREJOVÁ, J.; ANDRUCH, V. Ten years of dispersive liquid-liquid microextraction and derived techniques. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 52, p. 267-415, 2016.

CAMPOS, M. L. A. M.; BENDO, A.; VIEL, F. C. Métodos de baixo custo para purificação de reagentes e controle da contaminação para a determinação de metais traços em águas naturais. **Química Nova**, v. 25, p. 808-813, 2002.

CARABIAS-MARTÍNEZ, R.; RODRÍGUEZ-GONZALO, E.; MORENO-CORDERO, B.; PÉREZ-PAVÓN, J. L.; GARCÍA-PINTO, C.; LAESPADA, E. F. Surfactant cloud point extraction and preconcentration of organic compounds prior to chromatography and capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 902, p. 251-265, 2000.

CARNEADO, S.; HERNÁNDEZ-NATAREN, E.; LÓPEZ-SÁNCHEZ, J. F.; SAHUQUILLO, A. Migration of antimony from polyethylene terephthalate used in mineral water bottles. **Food Chemistry**, v. 166, p. 544-550, 2015.

CETESB, **Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**, Secretaria de Estado do Meio Ambiente. 2016 Disponível em: <<http://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/publicacoes-e-relatorios/>>. Acesso em 10 de dezembro de 2017.

CHAPA-MARTÍNEZ, C.A.; HINOJOSA-REYES, L.; HERNÁNDEZ-RAMÍREZ, A.; RUIZ-RUIZ, E.; MAYA-TREVIÑO, L.; GUZMÁN-MAR, J.L. An evaluation of the migration of antimony from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water. **Science of the Total Environment**, v. 565, p. 511-518, 2016.

CHEN, H.; DU, P.; CHEN, J.; HU, S.; LI, S.; LIU, H. Separation and preconcentration system based on ultrasonic probe-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction for determination trace amount of chromium(VI) by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 81, p. 176-179, 2010.

CHEN, S.; ZHU, S.; HE, Y.; LU, D. Speciation of chromium and its distribution in tea leaves and tea infusion using titanium dioxide nanotubes packed microcolumn coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 150, p. 254-259, 2014.

CHERFI, A.; ABDOUN, S.; GACI, O. Food survey: Levels and potential health risks of chromium, lead, zinc and copper content in fruits and vegetables consumed in Algeria. **Food and Chemical Toxicology**, v. 70, p. 48-53, 2014.

CHOE, S. Y.; KIM, S. J.; KIM, H. G.; LEE, J. H.; CHOI, Y.; LEE, H.; KIM, Y. Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. **Science of the Total Environment**, v. 312, p. 15-21, 2003.

CHOPPALA, G.; BOLAN, N.; PARK, J. H. Chromium Contamination and Its Risk Management in Complex Environmental Settings. **Advances in Agronomy**, v. 120, p. 129-172, 2013.

CHWASTOWSKA, J.; SKWARA, W.; STERLIŃSKA, E.; PSZONICKI, L. Speciation of chromium in mineral waters and salinas by solid-phase extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 66, p. 1345-1349, 2005.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex Standard for Natural Mineral Waters**, Codex Stan 108-1981. Amendment 2011. p. 1-4.

CONAMA, **Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Ministério do Meio Ambiente. Resolução nº 347, 2005.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, p. 1820-1830, 2008.

D.MAPS, **Brasil/República Federativa do Brasil**. Disponível em: <http://d-maps.com/carte.php?num_car=24872&lang=es>. Acesso em: 5 de dezembro de 2017.

DA ROSA FILHO, E. F. Qualidade das águas superficiais e subterrâneas da bacia hidrográfica do Iraí. **Boletim Paranaense de Geociências**, v. 66-67, p. 41-50, 2012.

DA SILVA, E. G.; MATAVELIA, L. R. V.; ARRUDA, M. A. Z. Speciation analysis of selenium in plankton, Brasil nut and human urine samples by HPLC-ICP-MS. **Talanta**, v. 110, p. 53-57, 2013.

DAMODARAN, S; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DE ANDRADE, C. K.; DE BRITO, P. M. K.; DOS ANJOS, V. E.; QUINÁIA, S. P. Determination of Cu, Cd, Pb and Cr in yogurt by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry: A case study for Brazilian yogurt. **Food Chemistry**, v. 240, p. 268-274, 2018.

DE ANDRADE, J. K.; DE ANDRADE, C. K.; FELSNER, M. L.; QUINÁIA, S. P.; DOS ANJOS, V. E. Pre-concentration and speciation of inorganic antimony in bottled water and natural water by cloud point extraction with Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 222-230, 2017.

DE OLIVEIRA, C. N.; CAMPOS, V. P.; MEDEIROS, Y. D. P. Avaliação e identificação de parâmetros importantes para a qualidade de corpos d'água no semiárido baiano. Estudo de caso: bacia hidrográfica do Rio Salitre. **Química Nova**, v. 33, p. 1059-1066, 2010.

DEPOI, F. S.; POZEBON, D. The Use of Cloud Point Extraction and Hydride Generation for Improving the Sb and Se Limits of Detection in ICP OES. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 2211-2221, 2012.

DEVILLERS, D.; BUZIER, R.; SIMON, S.; CHARRIAU, A.; GUIBAUD, G. Simultaneous measurement of Cr(III) and Cr(VI) in fresh Waters with a single Diffusive Gradients in Thin Films device. **Talanta**, v. 154, p. 533-538, 2016.

DOS ANJOS, V. E.; ABATE, G.; GRASSI, M. T. Comparação da labilidade de metais empregando voltametria, difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) e modelo computacional. **Química Nova**, v. 33, p. 1307-1312. 2010.

DOS ANJOS, V. E.; ABATE, G.; GRASSI, M. T. Determination of labile species of As(V), Ba, Cd, Co, Cr(III), Cu, Mn, Ni, Pb, Sr, V(V), and Zn in natural waters using diffusive gradients in thin-film (DGT) devices modified with montmorillonite. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 409, p. 1963-1972, 2017.

DURAN, A.; TUZEN, M.; SOYLAK, M. Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in geological and water samples by ytterbium(III) hydroxide coprecipitation system and atomic absorption spectrometry. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 1633-1637, 2011.

EPA - US. Environmental Protection Agency. **Drinking water regulations and health advisories**, Washington, 1996.

FAN, W.; QIAO, J.; GUAN, X. Multi-wavelength spectrophotometric determination of Cr(VI) in water with ABTS. **Chemosphere**, v. 171, p. 460-467, 2017.

FAN, Y.; ZHENG, J.; REN, J.; LUO, J.; CUI, X.; MA, L. Q. Effects of storage temperature and duration on release of antimony and bisphenol A from polyethylene terephthalate drinking water bottles of China. **Environmental Pollution**, v. 192, p. 113-120, 2014.

FAN, Z. Speciation Analysis of Antimony (III) and Antimony (V) by Flame Atomic Absorption Spectrometry After Separation/Preconcentration With Cloud Point Extraction. **Microchimica Acta**, v. 152, p. 29-33, 2005.

FARMACOTÉCNICA: **Farmácia Diária**. Disponível em: <http://diariodefarmacia2010.blogspot.com.br/2012/03/excipientes.html>. Acesso em: 20 de novembro de 2017.

FERREIRA, I. D.; MORITA, D. M. Biodegradação de alcoóis, ftalatos e adipatos em um solo tropical contaminado. **Química Nova**, v.33, p. 1686-1691, 2010.

FERREIRA, S. L. C.; DOS SANTOS, W. N. L.; DOS SANTOS, I. F.; JUNIOR, M. M. S.; SILVA, L. O. B.; BARBOSA, U. A.; DE SANTANA, F. A.; QUEIROZ, A. F. de S. Strategies of sample preparation for speciation analysis of inorganic antimony using hydride generation atomic spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 114, p. 22-31, 2014.

FILELLA, M.; BELZILE, N.; CHEN, Y. Antimony in the environment: a review focused on natural waters I. Occurrence. **Earth-Science Reviews**, v. 57, p. 125-176, 2002a.

FILELLA, M.; BELZILE, N.; CHEN, Y. Antimony in the environment: a review focused on natural waters II. Relevant solution chemistry. **Earth-Science Reviews**, v. 59, p. 265-285, 2002b.

FILELLA, M.; BELZILE, N.; LETT, M. Antimony in the environment: A review focused on natural waters. III. Microbiota relevant interactions. **Earth-Science Reviews**, v. 80, p. 195-217, 2007.

FLEM, B.; REIMANN, C.; FABIAN, K.; BIRKE, M.; FILZMOSER, P.; BANKS, D. Graphical statistics to explore the natural and anthropogenic processes influencing the inorganic quality of drinking water, ground water and surface water. **Applied Geochemistry**, *In Press*, 2017.

FREIRE, M. T. A.; REYES, F. G. R., E CASTLE, L. Estabilidade Térmica de Embalagens de Poli (Tereftalato de Etileno (PET): Determinação de Oligômeros. **Polímeros: Ciência e tecnologia**, v. 8, p.46-53, 1998.

FRIZZARIN, R. M.; PORTUGAL, L. A.; ESTELA, J. M.; ROCHA, F. R.P.; CERDÀ, V. On-line lab-in-syringe cloud point extraction for the spectrophotometric determination of antimony. **Talanta**, v. 148, p. 694-699, 2015.

FROES, R. E. S.; WINDMÖLLER, C. C.; DA SILVA, J. B. B. Emprego da Modificação Química Permanente para a determinação de metais em matrizes diversas por Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite. **Revista Analytica**, n. 23, p. 32-43, 2006.

GAMA, M. R. Processos Fenton como Alternativa na Remoção de Interferentes Endócrinos e outros Micropoluentes Ambientais. **Revista Virtual de Química**, v. 4, p. 777-787, 2012.

GARFÍ, M.; CADENA, E.; SANCHEZ-RAMOS, D.; FERRER, I. Life cycle assessment of drinking water: comparing conventional water treatment, reverse osmosis and mineral water in glass and plastic bottles. **Journal of Cleaner Production**, v. 137, p. 997-1003, 2016.

GENÇ-FUHRMAN, H.; MIKKELSEN, P. S.; LEDIN, A. Simultaneous removal of As, Cd, Cr, Cu, Ni and Zn from stormwater using high-efficiency industrial sorbents: Effect of pH, contact time and humic acid. **Science of the Total Environment**, v. 566-567, p. 76-85, 2016.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v. 30, p. 695-706, 2007.

GOLIMOWSKI, J.; GOLIMOWSKA, K. UV-photooxidation as pretreatment step in inorganic analysis of environmental samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 325, p. 111-133, 1996.

GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. Á.; ASUERO, A. G. Intra-laboratory assessment of method accuracy (trueness and precision) by using validation standards. **Talanta**, v. 82, p. 1995-1998, 2010.

GRASSI, M. T.; SHI, B.; ALLEN, H. E. Partition of Copper between Dissolved and Particulate Phases Using Aluminum Oxide as an Aquatic Model Phase: Effects of pH, Solids and Organic Matter. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, p. 516-524, 2000.

GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia médica**. 8ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.

HAGAROVÁ, I.; KUBOVÁ, J.; MATÚŠ, P.; BUJDOŠ, M. Speciation of inorganic antimony in natural waters by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry after selective separation and preconcentration of antimony(III) with cloud point extraction. **Acta Chimica Slovenica**, v. 55, p. 528-534, 2008.

HAITZER, M.; HÖSS, S.; TRAUNSPURGER, W.; STEINBERG, C. Effects of dissolved organic matter (DOM) on the bioconcentration of organic chemicals in aquatic organisms - A review. **Chemosphere**, v. 37, p. 1335-1362, 1998.

HANSEN, H. R.; PERGANTIS, S. A. Detection of antimony species in citrus juices and drinking water stored in PET containers. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 21, p. 731-733, 2006.

HEMMATKHAH, P.; BIDARI, A.; JAFARVAND, S.; HOSSEINI, M. R. M.; ASSADI, Y. Speciation of chromium in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, v. 166, p. 69-75, 2009.

HERMELO, P. H. **Especiación de metales pesados mediante la formación de quelatos. Distribución de las especies inorgánicas de As y Cr en la ría de Arousa**. Santiago de Compostela, Espanha: Univ Santiago de Compostela, 2007.

HOGARTH, G. Metal-dithiocarbamate complexes: chemistry and biological activity. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 1202-1215, 2012.

HOGARTH, G. Transition metal dithiocarbamates: 1978-2003. **Progress in Inorganic Chemistry**, v. 53, p. 71-561, 2005.

HOSSEINI, M. S.; BELADOR, F. Cr(III)/Cr(VI) speciation determination of chromium in water samples by luminescence quenching of quercetin. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, p. 1062-1067, 2009.

HU, L.; CAI, Y.; JIANG, G. Occurrence and speciation of polymeric chromium(III), monomeric chromium(III) and chromium(VI) in environmental samples. **Chemosphere**, v. 156, p. 14-20, 2016.

HU, X.; HE, M.; LI, S. Antimony leaching release from brake pads: Effect of pH, temperature and organic acids. **Journal of Environmental Sciences**, v. 29, p. 11-17, 2015.

HUREIKI, L.; MOUNEIMNE, Y. Antimony release in PET bottled natural water in Lebanon. **Water Science & Technology: Water Supply**, v. 12, p. 193-199, 2012.

ICH - International Conference on Harmonisation, **Validation of Analytical Procedures: Methodology**, Q2B 1996.

IWAMOTO, E.; INOIKE, Y.; YAMAMOTO, Y.; HAYASHI, Y. Interferences of Antimony(V) in the Differentiation of Antimony(III) from Antimony(V) by Extraction with Ammonium Tetramethylenedithiocarbamate Using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Analyst**, v. 111, p. 295-298, 1986.

JESUS, A.; DESSUY, M. B.; HUBER, C. S.; ZMOZINSKI, A. V.; DUARTE, Á. T.; VALE, M. G. R.; ANDRADE, J. B. Determination of antimony in PET containers by direct analysis of solid samples using graphite furnace atomic absorption spectrometry and leaching studies. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 222-227, 2016.

JIANG, H.; YANG, T.; WANG, Y.; LIAN, H.; HU, X. Magnetic solid-phase extraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for speciation of Cr(III) and Cr(VI) in environmental waters. **Talanta**, v. 116, p. 361-367, 2013.

JIANG, X.; WEN, S.; XIANG, G. Cloud point extraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the speciation of antimony(III) and antimony(V) in food packaging materials. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, p. 146-150, 2010.

KACZYNSKI, S. E.; KLEBER, R. J. Aqueous trivalent chromium photoproduction in natural waters. **Environment Science & Technology**, v. 27, p. 1572-1576, 1993.

KALČÍKOVÁ, G.; ZUPANČIČ, M.; JEMEC, A.; GOTVAJN, A. Ž. The impact of humic acid on chromium phytoextraction by aquatic macrophyte *Lemna minor*. **Chemosphere**, v. 147, p. 311-317, 2016.

KERESZTES, S.; TATÁR, E.; MIHUCZ, V. G.; VIRÁG, I.; MAJDIK, C.; ZÁRAY, G. Leaching of antimony from polyethylene terephthalate (PET) bottles into mineral water. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 4731-4735, 2009.

KIM, K.; SEO, K.; LEE, J.; KIM, M.; HA, K.; KIM, C. Investigation and prediction of the salting-out effect of methane in various aqueous electrolyte solutions. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 34, p. 117-121, 2016.

KIYATAKA, P. H. M.; DANTAS, S. T.; ALBINO, A. C.; PALLONE, J. A. L. Antimony Assessment in PET Bottles for Soft Drink. **Food Analytical Methods**, v. 11, p. 1-9, 2018.

KOTAŚ, J.; STASICKA, Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. **Environmental Pollution**, v. 107, p. 263-283, 2000.

KRACHLER, M.; SHOTYK, W. Trace and ultratrace metals in bottled waters: Survey of sources worldwide and comparison with refillable metal bottles. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 1089-1098, 2009.

KUMBASAR, R. A. Selective extraction of chromium (VI) from multicomponent acidic solutions by emulsion liquid membranes using tributylphosphate as carrier. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, p. 875-882, 2010.

LARIOS, R.; FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, R.; LEHECHO, I.; RUCANDIO, I. A methodological approach to evaluate arsenic speciation and bioaccumulation in different plant species from two highly polluted mining areas. **Science of the Total Environment**, v. 414, p. 600-607, 2012.

LEE, S. K.; CHOI, H. Spectrophotometric Determination of Cadmium and Copper with Ammonium Pyrrolidinedithiocarbamate in Nonionic Tween 80 Micellar Media. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 22, p. 463-466, 2001.

LEMOES, V. A.; FERREIRA, V. J.; BARRETO, J. A.; MEIRA, L. A. Development of a Method Using Ultrasound-Assisted Emulsification Microextraction for the Determination of Nickel in Water Samples. **Water, Air, Soil & Pollution**, v. 226, p. 141, 2015.

LI, P.; CHEN, Y.; HU, X.; LIAN, H. Magnetic solid phase extraction for the determination of trace antimony species in water by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Talanta**, v. 134, p. 292-297, 2015.

LI, Y.; HU, B.; JIANG, Z. On-line cloud point extraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for the speciation of inorganic antimony in environmental and biological samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 576, p. 207-214, 2006.

LI, Y.; HU, H.; HE, M.; XIANG, G.; Simultaneous speciation of inorganic selenium and antimony in water samples by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry following selective cloud point extraction. **Water Research**, v. 42, p. 1195-1203, 2008.

LIANG, P.; SANG, H. Speciation of chromium in water samples with cloud point extraction separation and preconcentration and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 154, p. 1115-1119, 2008.

LÓPEZ-GARCÍA, I.; BRICEÑO, M.; VICENTE-MARTÍNEZ, Y.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the speciation

of traces of chromium using electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 115, p. 166-171, 2013.

LÓPEZ-GARCÍA, I.; VICENTE-MARTÍNEZ, Y.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Determination of very low amounts of chromium(III) and (VI) using dispersive liquid-liquid microextraction by in situ formation of an ionic liquid followed by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, p. 874-880, 2012.

MACDONALD, W. A. New advances in poly(ethylene terephthalate) polymerization and degradation. **Polymer International**, v. 51, p. 923-930, 2002.

MÄDLER, S.; TODD, A.; KINGSTON, H. M. S.; PAMUKU, M.; SUN, F.; TAT, C.; TOOLEY, R. J.; SWITZER, T. A.; FURDUI, V. I. Ultra-trace level speciated isotope dilution measurement of Cr(VI) using ion chromatography tandem mass spectrometry in environmental waters. **Talanta**, v. 156-157, p. 104-111, 2016.

MAJIDI, B.; SHEMIRANI, F. Salt-assisted liquid-liquid microextraction of Cr(VI) ion using na ionic liquid for preconcentration prior to its determination by flame atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, v. 176, p. 143-151, 2012.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em Química Analítica. **Química Nova**, v. 24, p. 87-93, 2001.

MARCINKOWSKA, M.; KOMOROWICZ, I.; BARAŁKIEWICZ, D. New procedure for multielemental speciation analysis of five toxic species: As(III), As(V), Cr(VI), Sb(III) and Sb(V) in drinking water samples by advanced hyphenated technique HPLC/ICP-DRC-MS. **Analytica Chimica Acta**, v. 920, p. 102-111, 2016.

MARCINKOWSKA, M.; LORENC, W.; BARAŁKIEWICZ, D. Study of the impact of bottles material and color on the presence of As^{III}, As^V, Sb^{III}, Sb^V and Cr^{VI} in matrix-rich mineral water – Multielemental speciation analysis by HPLC/ICP-DRC-MS. **Microchemical Journal**, v. 132, p. 1-7, 2017.

MARINS, B. R.; TANCREDI, R. C. P.; GEMAL, A. L. **Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio/Fundação Oswaldo Cruz, 2014.

MARKIEWICZ, B.; KOMOROWICZ, I.; SAJNÓG, A.; BELTER, M.; BARAŁKIEWICZ, D. Chromium and its speciation samples HPLC/ICP-MS – technique establishing metrological traceability: A review since 2000. **Talanta**, v. 132, p. 814-828, 2015.

MARTINS, M. L.; PRIMEL, E. G.; CALDAS, S. S.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. **Scientia Chromatographica**, v. 4, p. 35-51, 2012.

MASSCHELEYN, P. H.; PARDUE, J. H.; DELAUNE, R. D.; PATRICK JR., W. H. Cr redox chemistry in a lower Mississippi Valley bottomland hardwood wetland. **Environmental Science & Technology**, v. 26, p. 1217-1226, 1992.

MATOS, G. D.; DOS REIS, E. B.; COSTA, A. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Speciation of chromium in river water samples contaminated with leather effluents by flame atomic

absorption spectrometry after separation/preconcentration by cloud point extraction. **Microchemical Journal**, v. 92, p. 135-139, 2009.

MCNEILL, L. S.; MCLEAN, J. E.; PARKS, J. L.; EDWARDS, M. Hexavalent chromium review, part 2: Chemistry, occurrence, and treatment. **Journal American Water Works Association**, v. 104, p. 39-40, 2012.

MEČIAROVA, M.; TOMA, Š.; HERIBANOVÁ, A. Ultrasound Assisted Heterogeneous Permanganate Oxidations. **Tetrahedron**, v. 56, 8561-8566, 2000.

MELLO, P. A.; DUARTE, F. A.; MESKO, M. F.; NOGUEIRA, A. R. A.; FLORES, É. M. M. Preparo de amostras para especiação química. In: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: EditSBQ, 2016, p. 499-552.

MENDIL, D.; BARDAK, H.; TUZEN, M.; SOYLAK, M. Selective speciation of inorganic antimony on tetraethylenepentamine bonded silica gel column and its determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 107, p. 162-166, 2013.

MENG, F.; HUANG, G.; YANG, X.; LI, Z.; LI, J.; CAO, J.; WANG, Z.; SUN, L. Identifying the sources and fate of anthropogenically impacted dissolved organic matter (DOM) in urbanized rivers. **Water Research**, v. 47, p. 5027-5039, 2013.

MICHAEL-KORDATOU, I.; MICHAEL, C.; DUAN, X.; HE, X.; DIONYSIOU, D. D.; MILLS, M. A.; FATTA-KASSINOS, D. Dissolved effluent organic matter: Characteristics and potential implications in wastewater treatment and reuse applications. **Water Research**, v. 77, p.213-248, 2015.

MIHUCZ, V. G.; ZÁRAY, G. Occurrence of Antimony and Phthalate Esters in Polyethylene Terephthalate Bottled Drinking Water. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 51, p. 183-209, 2016.

MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: Uma abordagem aplicada**. Belo Horizonte: UFMG, 2005.

MINITAB. **Minitab Incorporation version 16.2.2. USA**, 2010.

MIOR, R.; DUTRA, J. N. B.; CARASEK, E. Desenvolvimento de um método analítico baseado em microextração líquido-líquido para a determinação de cromo(VI) em amostras aquosas com detecção por espectrometria de absorção atômica em chama. **Química Nova**, v. 36, p. 942-946, 2013.

MOREIRA, B. J.; YOKAYA, J. M. C.; DE GAITANI, C. M. Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME): fundamentos, inovações e aplicações biológicas. **Scientia Chromatographica**, v. 6, p. 186-204, 2014.

MOTARJEMI, Y.; MOY, G. G.; TODD, E. C. D. **Encyclopedia of Food Safety**. 1 ed. San Diego, Estados Unidos: Elsevier, 2014.

MUKHERJEE, P.; PADHAN, S. K.; DASH, S.; PATEL, S.; MISHRA, K. Clouding behaviour in surfactant systems. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 162, p. 59-79, 2011.

NAGHMUSH, M. A.; PYRZYNSKA, K.; TROJANOVICZ, M. Determination of chromium in different oxidation states by selective on-line preconcentration on cellulose sorbent and flow injection flame atomic absorption spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 288, p. 247-257, 1994.

NATA. **Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods**. 2012.

NOGUEIRA, A. R. A.; PEREIRA, J. S. F.; KAMOGAWA, M. Y. Decomposição promovida por radiação ultravioleta. In: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: EditSBQ, 2016, p. 475-496.

OJEDA, C. B.; ROJAS, F. S. Separation and Preconcentration by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Procedure: A Review. **Chromatographia**, v. 69, p. 1149-1159, 2009.

OKKENHAUG, G.; ZHU, Y.; LUO, L.; LEI, M.; LI, X.; MULDER, J. Distribution, speciation and availability of antimony (Sb) in soils and terrestrial plants from an active Sb mining area. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 2427-2434, 2011.

OLIVEIRA, A.; SILVA, N. Determinação da concentração de metais em águas do córrego Barbado, Cuiabá - MT. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 2, p. 47-63, 2013.

OUJHANI, A.; DACHRAOUI, M.; LALLEVE, G.; FAUVARQUE, J. F. Hexavalent chromium recovery by Liquid-Liquid Extraction with tributylphosphate from acidic chloride media. **Analytical Sciences**, v. 19, p. 1499-1504, 2003.

PALEOLOGOS, E. K.; GIOKAS, D. L.; KARAYANNIS, M. I. Micelle-mediated separation and cloud-point extraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, p. 426-436, 2005.

PATIL, A. A.; PATIL, T. J. Influence of Chloramine-T on the thermodynamics of clouding behaviour of non ionic surfactant Triton X-114. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 26, p. 689-692, 2010.

PAYÁN, L.; POYATOS, M.T.; MUÑOZ, L.; LA RUBIA, M. D.; PACHECO, R.; RAMOS, N. Study of the influence of storage conditions on the quality and migration levels of antimony in polyethylene terephthalate-bottled water. **Food Science and Technology International**, v. 23, p. 318-327, 2017.

PEARSON, R. G.; SONGSTAD, J. Application of the Principle of Hard and Soft Acids and Bases to Organic Chemistry. **Journal of the American Chemical Society**, v. 89, p. 1827-1836, 1967.

PEREIRA NETO, A.; BRETZ, J. S.; MAGALHÃES, F. S.; MANSUR, M. B.; ROCHA, S. D. F. Alternativas para o tratamento de efluentes da indústria galvânica. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 13, p. 263-270, 2008.

PESAVENTO, M.; ALBERTI, G.; BIESUZ, R. Analytical methods for determination of free metal ion concentration, labile species fraction and metal complexation capacity of environmental waters: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 631, p. 129-141, 2009.

PICÓ, Y. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, 2013.

PIRATOBA, A. R. A.; RIBEIRO, H. M. C.; MORALES, G. P.; GONÇALVES, W. G. Caracterização de parâmetros de qualidade de água na área portuária de Barcarena, PA, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 12, p. 435-456, 2017.

PITMAN, A. L.; POURBAIX, M.; DE ZOUBOV, N. Potential-pH Diagram of the Antimony-Water System: Its Applications to Properties of the Metal, Its Compounds, Its Corrosion, and Antimony Electrodes. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 104, p. 594-600, 1957.

PORTO, D. S.; AKIBA, N.; DE OLIVEIRA, M. A. L.; GAUBEUR, I. Speciation of Chromium in Water Samples after Dispersive Liquid-Liquid Microextraction, and Detection by Means of High-Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, p. 266-276, 2017.

PYTLAKOWSKA, K.; KOZIK, V.; DABIOCH, M. Complex-forming organic ligands in cloud-point extraction of metal ions: A review. **Talanta**, v. 110, p. 202-228, 2013.

QUINA, F. H.; HINZE, W. L. Surfactant-Mediated Cloud Point Extractions: An Environmentally Benign Alternative Separation Approach. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 38, p. 4150-4168, 1999.

REIMANN, C.; BIRKE, M.; FILZMOSER, P. Bottled drinking water: Water contamination from bottle materials (glass, hard PET, soft PET), the influence of colour and acidification. **Applied Geochemistry**, v. 25, p. 1030-1046, 2010.

REIMANN, C.; BIRKE, M.; FILZMOSER, P. Temperature-dependent leaching of chemical elements from mineral water bottle materials. **Applied Geochemistry**, v. 27, p. 1492-1498, 2012.

REZAEI, M.; YAMINI, Y.; FARAJI, M. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2342-2357, 2010.

RIBEIRO, E. A.; SANDRI, D.; BOÊNO, J. A. Qualidade da água de córrego em função do lançamento de efluente de abate de bovino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 425-433, 2013.

RIBEIRO, F. A. de L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R. da; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: Uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v. 31, p. 164-171, 2008.

RIVAS, R. E.; LÓPEZ-GARCIA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters using dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 64, p. 329-333, 2009.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. 3 ed. Campinas: Editora Carítá, 2014.

ROMÃO, W.; SPINACÉ, M. A. S.; DE PAOLI, M. Poli(tereftalato de etileno), PET: Uma revisão sobre os processos de síntese, mecanismos de degradação e sua reciclagem. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, p. 121-132, 2009.

RUBINÉIA, **Rio Paraná**. Disponível em: <<http://ivorubineia.blogspot.com.br/2009/06/rio-parana.html>>. Acesso em: 5 de dezembro de 2017.

RUNGCHANG, S.; NUMTHUAM, S.; QIU, X.; LI, Y.; SATAKE, T. Diffusion coefficient of antimony leaching from polyethylene terephthalate bottles into beverages. **Journal of Food Engineering**, v. 115, p. 322–329, 2013.

SAHU, K. K.; VERMA, V. K.; BAGCHI, D.; KUMAR, V.; PANDEY, B. D. Recovery of chromium (VI) from electroplating effluent by solvent extraction with tri-n-butyl phosphate. **Indian Journal of Chemical Toxicology**, v. 15, p. 397-402, 2008.

SAIEN, J.; ASADABADI, S. Salting-out effect of NaCl on the rate of mass transfer of liquid-liquid extraction in a two impinging-jets contacting device. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 41, p. 295-301, 2010.

SAMADDAR, P.; SEN, K. Cloud point extraction: A sustainable method of elemental preconcentration and speciation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, p. 1209-1219, 2014.

SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, M.; PÉREZ-CORONA, T.; CÁMARA, C.; MADRID, Y. Migration of antimony from PET containers into regulated EU food simulants. **Food Chemistry**, v. 141, p. 816-822, 2013.

SAPUTRO, S.; YOSHIMURA, K.; MATSUOKA, S.; TAKEHARA, K.; NARSITO; AIZAWA, J.; TENNICHI, Y. Speciation of dissolved chromium and the mechanisms controlling its concentration in natural water. **Chemical Geology**, v. 364, p. 33-41, 2014.

SCHEFFER, E. W.; SODRÉ, F. F.; GRASSI, M. T. Fatores que governam a especiação do cobre em ambientes aquáticos urbanos: evidências da contribuição de sulfetos solúveis. **Química Nova**, v. 30, p. 332-338, 2007.

SHAH, F.; KAZI, T. G.; AFRIDI, H. I.; NAEEMULLAH; ARAIN, M. B.; BAIG, J. A. Cloud point extraction for determination of lead in blood samples of children, using different ligands prior to analysis by flame atomic absorption spectrometry: A multivariate study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 192, p. 1132-1139, 2011.

SHAKERIAN, F.; DADFARNIA, S.; SHABANI, A. M. H.; AHMAD ABADI, M. N. Synthesis and characterisation of nano-pore antimony imprinted polymer and its use in the extraction and determination of antimony in water and fruit juice samples. **Food Chemistry**, v. 145, p. 571–577, 2014.

SHARID, M.; SHAMSHAD, S.; RAFIQ, M.; KHALID, S.; BIBI, I.; NIAZI, N. K.; DUMAT, C.; RASHID, M. I. Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. **Chemosphere**, v. 178, p. 513-533, 2017.

SHIMAMOTO, G. G.; KAZITORIS, B.; LIMA, L. F. R.; ABREU, N. D.; SALVADOR, V. T.; BUENO, M. I. M. S.; CASTRO, E. V. C.; FILHO, E. A. S.; ROMÃO, W. Quantificação de antimônio em garrafas de politereftalato de etileno (PET) brasileiras por fluorescência de raios-X e avaliação quimiométrica para verificar a presença de PET reciclado através do teor de ferro. **Química Nova**, v. 34, p. 1389-1393, 2011.

SHIRKHANLOO, H.; GHAZAGHI, M.; MOUSAVI, H. Z. Chromium speciation in human blood samples based on acetyl cysteine by dispersive liquid–liquid biomicroextraction and in-vitro evaluation of acetyl cysteine/cysteine for decreasing of hexavalent chromium concentration. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 118, p. 1-8, 2016.

SHOTYK, W.; KRACHLER, M. Contamination of Bottled Waters with Antimony Leaching from Polyethylene Terephthalate (PET) Increases upon Storage. **Environmental Science and Technology**, v. 41, p. 1560-1563, 2007.

SHOTYK, W.; KRACHLER, M.; CHEN, B. Contamination of Canadian and European bottled waters with antimony from PET containers. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 8, p. 288-292, 2006.

SOLIMANZADEH, A.; FEKRI, M. The application of green tea extract to prepare bentonite-supported nanoscale zero-valent iron and its performance on removal of Cr(VI): Effect of relative parameters and soil experiments. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 239, p. 60-69, 2017.

SOMERA, B. F.; DE OLIVEIRA, F. M.; BARRETO, W. J.; BARRETO, S. R. G.; TARLEY, C. R. T. Extração/préconcentração de íons cobre no ponto nuvem explorando a formação de complexos com DMIT [4,5-dimercapto-1,3-ditiol-2-tionato]. **Química Nova**, v. 35, p. 1600-1605, 2012.

SOUZA, J. M. O.; TARLEY, C. R. T. Preconcentration and Speciation of Sb(III) and Sb(V) in Water Samples and Blood Serum after Cloud Point Extraction Using Chemometric Tools for Optimization. **Analytical Letters**, v. 41, p. 2465–2486, 2008.

STUMM, W.; MORGAN, J. J. **Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters**. 3ed, Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1996.

SUBRAMANIAN, K.S.; MERANGER, J. C. determination of arsenic(III), arsenic(V), antimony(III), antimony(V), selenium(IV) and selenium(VI) by extraction with ammonium pyrrolidinedithiocarbamate-methyl isobutyl ketone and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 124, p. 131-142, 1981.

SUSSULINI, A.; ARRUDA, M. A. Z. Determinação de cromo (VI) por espectrometria de absorção atômica com chama após a extração e préconcentração no ponto nuvem. **Eclética Química**, v. 31, p. 73-80, 2006.

TAHMASEBI, Z.; DAVARANI, S. S. H. Selective and sensitive speciation analysis of Cr(VI) and Cr(III), at sub- $\mu\text{g L}^{-1}$ levels in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after electromembrane extraction. **Talanta**, v. 161, p. 640-646, 2016.

TAKAHASHI, Y.; SAKUMA, K.; ITAI, T.; ZHENG, G.; MITSUNOBU, S. Speciation of Antimony in PET Bottles Produced in Japan and China by X-ray Absorption Fine Structure Spectroscopy. **Environmental Science & Technology**, v. 42, p. 9045-9050, 2008.

TEMPLETON, D. M.; ARIESE, F.; CORNELIS, R.; DANIELSSON, L. G.; MUNTAU, H.; van LEEUWEN, H. P.; LOBINSKI, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC recommendations 2000). IUPAC. **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, p. 1453-1470, 2000.

TUKUR, A.; SHARP, L.; STERN, B.; TIZAOUI, C.; BENKREIRA, H. PET bottle use patterns and antimony migration into bottled water and soft drinks: the case of British and Nigerian bottles. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 14, p. 1237-1247, 2012.

TYLEND, C. A.; FOWLER, B. A. Chapter 18: Antimony. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. **Handbook on the Toxicology of Metals**. 3. ed. Oxford: Academic Press Inc., 2007. p. 353-365.

UE - **Regulamento 10/2011 da Comissão de 14 de Janeiro de 2011 relativo aos materiais e objectos de matéria plástica destinados a entrar em contacto com os alimentos**. Publicado no Jornal Oficial da União Europeia, 2011.

UNGUREANU, G.; SANTOS, S.; BOAVENTURA, R.; BOTELHO, C. Arsenic and antimony in water and wastewater: Overview of removal techniques with special reference to latest advances in adsorption. **Journal of Environmental Management**, v. 151, p. 326-342, 2015.

VANINI, G.; DE CASTRO, E. V. R.; DA SILVA FILHO, E. A.; ROMÃO, W. Despolimerização Química de PET Grau Garrafa Pós-consumo na Presença de um Catalisador Catiônico, o Brometo de Hexadeciltrimetilamônio (CTAB). **Polímeros**, v. 23, p. 425-431, 2013.

VENKATESWARAN, P.; PALANIVELU, K. Studies on recovery of hexavalent chromium from plating wastewater by supported liquid membrane using tri-*n*-butyl phosphate as carrier. **Hydrometallurgy**, v. 78, p. 107-115, 2005.

VIANA, C.; BOHRER, D.; DE CARVALHO, L. M.; DO NASCIMENTO, P. C.; DA ROSA, M. B. Emulsified systems for metal determination by spectrometric methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 53, p. 49-59, 2014.

VIDAL, L.; SILVA, S. G.; CANALS, A.; NÓBREGA, J. A. Tungsten coil atomic emission spectrometry combined with dispersive liquid-liquid microextraction: A synergistic association for chromium determination in water samples. **Talanta**, v. 148, p. 602-908, 2016.

VIEIRA, M. A.; GRINBERG, P.; BOBEDA, C. R. R.; REYES, M. N. M.; CAMPOS, R. C. Non-chromatographic atomic spectrometric methods in speciation analysis: A review. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 64, p. 459-476, 2009.

VINHAL, J. O.; GONÇALVES, A. D.; CRUZ, G. F.B.; CASSELLA, R. J. Speciation of inorganic antimony (III & V) employing polyurethane foam loaded with bromopyrogallol red. **Talanta**, v. 150, p. 539-545, 2016.

VITÓ, C. V. G.; DA SILVA, L. J. B. F.; OLIVEIRA, K. M. L.; GOMES, A. T.; NUNES, C. R. O. Avaliação da qualidade da água: determinação dos possíveis contaminantes da água de poços artesianos na região noroeste fluminense. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 7, p. 59-75, 2016.

WANG, Y.; KE, X.; ZHANG, J.; DU, X.; MA, J.; LI, J. A novel separation/preconcentration technique based on ultrasonic dispersion liquid-liquid microextraction for determination of trace cobalt by flame atomic absorption spectrometry. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 26, p. 9-18, 2012.

WELLE, F.; FRANZ, R. Migration of antimony from PET bottles into beverages: determination of the activation energy of diffusion and migration modelling compared with literature data. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 28, p. 115-126, 2011.

WEN, S.; ZHU, X. Speciation of antimony(III) and antimony(V) by electrothermal atomic absorption spectrometry after ultrasound-assisted emulsification of solidified floating organic drop microextraction. **Talanta**, v. 115; p. 814-818, 2013.

WESTERHOFF, P.; PRAPAIPONG, P.; SHOCK, E.; HILLLAIREAU, A. Antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water. **Water Research**, v. 42, p. 551-556, 2008.

WHO - World Health Organization. **Antimony in Drinking-Water-Background Document for Development WHO Guidelines for Drinking-Water Quality**, WHO, Geneva, 2003.

WU, H.; WANG, X.; LIU, B.; LIU, Y.; LI, S.; LU, J.; TIAN, J.; ZHAO, W.; YANG, Z. Simultaneous speciation of inorganic arsenic and antimony in water samples by hydride generation-double channel atomic fluorescence spectrometry with on-line solid-phase extraction using single-walled carbon nanotubes micro-column. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 66, p. 74-80, 2011.

XU, L.; WANG, T.; WANG, J.; LU, A. Occurrence, speciation and transportation of heavy metals in 9 coastal rivers from watershed of Laizhou Bay, China. **Chemosphere**, v. 173, p. 61-68, 2017.

YAO, J.; ZHANG, Y.; HU, Q.; ZENG, D.; HUA, F.; MENG, W.; WANG, W.; BAO, G. Optimization of paeonol-loaded poly(butyl-2-cyanoacrylate) nanocapsules by central composite design with response surface methodology together with the antibacterial properties. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, p. 189-199, 2017.

ZHANG, W.; LIU, J.; REN, Z.; DU, C.; MA, J. Solvent Extraction of Chromium(VI) with Tri-n-butyl Phosphate from Aqueous Acidic Solutions. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 52, p. 2220-2223, 2007.

ZHENG, F.; LIN, X.; YU, H.; LI, S.; HUANG, X. Visible-light photoreduction, adsorption, matrix conversion and membrane separation for ultrasensitive chromium determination in natural water by X-ray fluorescence. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 226, p. 500-505, 2016.

ZHITKOVICH, A. Chromium in Drinking Water: Sources, Metabolism, and Cancer Risks. **Chemical Research in Toxicology**, v. 24, p. 1617-1629, 2011.

ZHU, X.; HU, B.; JIANG, Z.; LI, M. Cloud point extraction for speciation of chromium in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Water Research**, v. 39, p. 589-595, 2005.