

5 Resultados e discussão

5.1 Introdução direta das soluções diluídas em xileno, por nebulização pneumática

5.1.1 Otimização das condições experimentais

Neste trabalho, a fim de propor um método simples, fácil e rápido, foi testada a viabilidade da determinação de As, Sb e Se por introdução direta das amostras de óleo cru e biodiesel no ICP OES. Para tanto, foram feitas otimizações multivariadas das condições de operação com soluções de calibração preparadas por dissolução de padrões orgânicos em xileno. Este solvente foi escolhido, por ser o recomendado pela norma ABNT NBR 15553, em que se determinam teores de cálcio, magnésio, sódio, potássio e fósforo em produtos derivados de óleos e gorduras, por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.¹²⁹ As variáveis otimizadas (potência, vazão do gás de nebulização e vazão de aspiração da amostra) e seus níveis empregados no planejamento experimental estão mostrados na Tabela 11. A faixa estudada foi escolhida a partir das recomendações do fabricante do equipamento ICP OES, para o emprego de solventes orgânicos, e da experiência de rotina empregada no laboratório. A matriz utilizada no planejamento fatorial 2^3 na otimização multivariada e o critério utilizado como resposta analítica (SBR) obtida em cada ensaio experimental estão apresentados na Tabela 12. Os gráficos de Pareto para os efeitos principais e de combinações de fatores são apresentados na Figura 7, onde o comprimento da barra é proporcional ao valor absoluto do efeito estimado. Sendo assim, a importância relativa dos efeitos pode ser facilmente comparada.

Tabela 11: Valores mínimo (-), máximo (+) e ponto central (CP) (0) das variáveis empregadas na otimização multivariada para introdução de amostras diluídas em xileno.

Fator	Variável	Mínimo (-)	(0)	Máximo (+)
1	Potência RF, W	1300	1400	1500
2	Vazão do gás de nebulização, L min ⁻¹	0,35	0,40	0,45
3	Vazão de aspiração da amostra, mL min ⁻¹	0,5	0,6	0,7

Tabela 12: Matriz de planejamento com as respectivas respostas (SBR) para identificação das variáveis significativas na determinação direta de As, Sb e Se em amostras diluídas em xileno, por ICP OES.

Experimentos	1	2	3	SBR		
				As	Sb	Se
1	-	-	-	0,660	0,971	0,256
2	+	-	-	0,467	0,701	0,191
3	-	+	-	2,05	1,50	0,764
4	+	+	-	2,03	1,49	0,759
5	-	-	+	1,03	1,24	0,421
6	+	-	+	0,791	0,988	0,341
7	-	+	+	2,01	1,38	0,770
8	+	+	+	2,05	1,51	0,763
9	0	0	0	1,76	1,71	0,670
10	0	0	0	1,78	1,80	0,667
11	0	0	0	1,73	1,61	0,676

Fatores: 1: Potência (W); 2: Vazão do gás de nebulização (L min⁻¹); 3: Vazão de aspiração da amostra (mL min⁻¹).

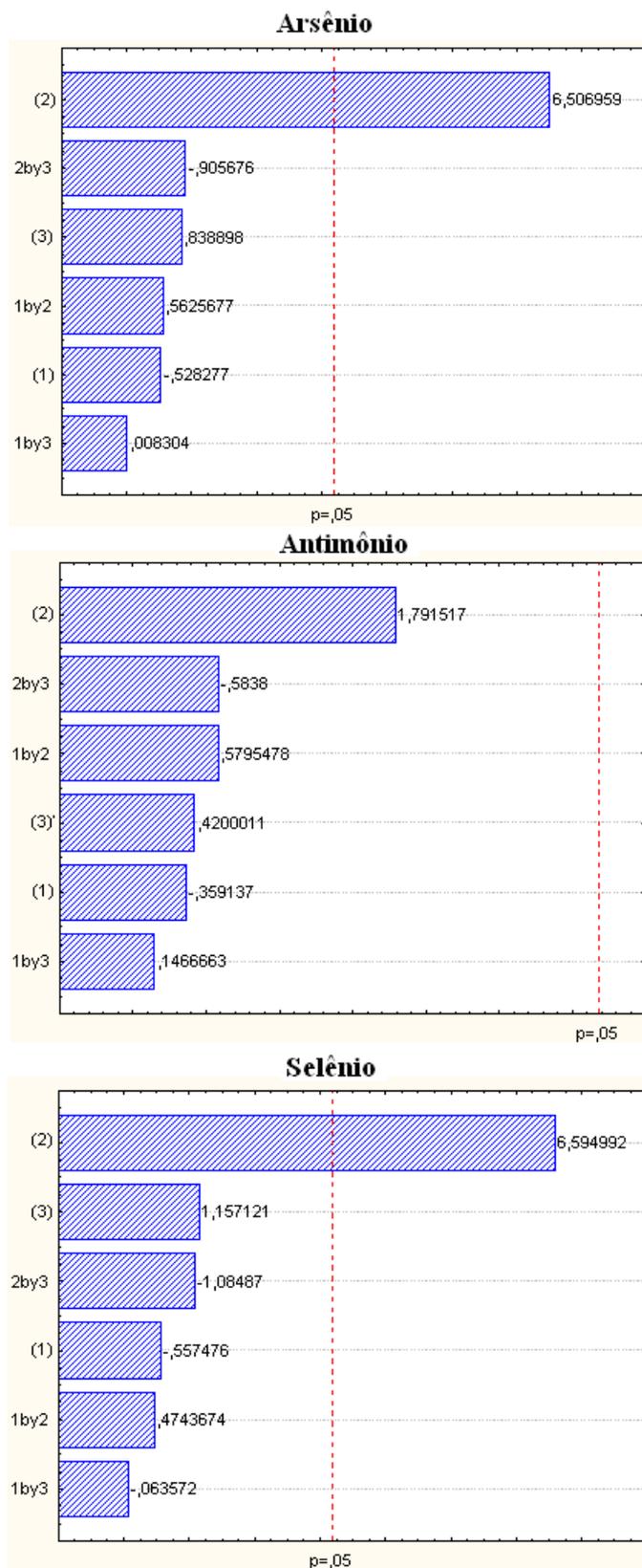


Figura 7: Gráficos de Pareto obtidos na otimização das condições experimentais para introdução direta de solução contendo As, Sb e Se em xileno. (1) Potência (W), (2) Vazão do gás de nebulização (L min^{-1}), (3) Vazão de aspiração da amostra (mL min^{-1}).

Como pode ser observado nos gráficos de Pareto (Figura 7), entre os fatores estudados, a vazão do gás de nebulização (2) foi o único parâmetro que revelou ser significativo na otimização empregada, isto para As e Se. Como a tendência apresentada pelos dois analitos foi positiva, a escolha do máximo utilizado no planejamento para esse parâmetro mostra ser a mais viável.

Os demais parâmetros, potência (1) e vazão de aspiração da amostra (3), não apresentaram efeitos significativos para a otimização realizada, para nenhum dos analitos estudados. Sendo assim, os seus valores foram fixados de acordo com a tendência apresentada neste estudo.

Para a escolha dos valores a serem fixados para cada um dos parâmetros avaliados, respeitaram-se as situações apresentadas nos gráficos de Pareto para os três elementos. Nesse sentido, como a tendência da potência para todos os elementos foi unânime, apresentando efeito positivo, escolheu-se o valor máximo, 1500 W. Mesmo não tendo um efeito significativo para os três analitos, este valor máximo foi estabelecido devido aos baixos SBRs obtidos pelos elementos de interesse quando se emprega a determinação por introdução direta com diluição das amostras em xileno, visto que se objetiva a máxima sensibilidade possível. Do mesmo modo, se escolheu a vazão de aspiração da amostra. Como seu efeito foi positivo para os três analitos, o máximo foi empregado como valor a ser fixado, 0,7 mL min⁻¹. A vazão do gás de nebulização foi fixada em 0,45 L min⁻¹, em virtude de ter apresentado uma significativa tendência positiva para As e Se.

5.1.2

Limites de detecção para introdução direta de soluções em xileno

Nessas condições (1500 W de potência RF, 0,45 L min⁻¹ de vazão do gás de nebulização e 0,7 mL min⁻¹ de vazão de aspiração das soluções), foram determinados os LODs a partir de uma curva de calibração preparada com os padrões orgânicos dos analitos em xileno. Os LODs obtidos para os analitos na solução de leitura foram, em µg kg⁻¹, As: 9,0, Sb: 14 e Se: 23, sem considerar o fator de diluição de aproximadamente 10x. Esses valores correspondem a LOQs aproximados de 300 µg kg⁻¹ para As, 460 µg kg⁻¹ para Sb e 760 µg kg⁻¹ para Se nas amostras. A análise das amostras, tanto de biodiesel, como de óleo cru, não permitiram quantificar esses analitos por esse método, indicando que suas concentrações estão abaixo desses valores em todas as amostras.

5.2 Introdução direta das amostras decompostas utilizando nebulização pneumática

5.2.1 Otimização das condições experimentais

Uma vez que a análise por introdução direta das soluções preparadas em xileno não forneceu sensibilidade suficiente para a determinação de As, Sb e Se nas amostras de óleo cru e biodiesel (5.1.2), partiu-se para a determinação com soluções aquosas, que normalmente proporciona maior sensibilidade nas análises por ICP OES. Para a calibração com soluções aquosas, é necessário que as amostras sejam convertidas em soluções aquosas, por decomposição da matéria orgânica em meio ácido, podendo este pré-tratamento ser realizado em forno de microondas ou em bloco digestor, uma vez que sistemas abertos levariam à perda dos analitos por volatilização.

Assim, as condições operacionais foram novamente otimizadas, para os analitos em solução aquosa, através de planejamento experimental. Neste caso, a faixa estudada foi diferente da escolhida na introdução direta das amostras diluídas em xileno, também selecionadas a partir das orientações do fabricante e da experiência de rotina empregada no laboratório. Os mesmos parâmetros foram otimizados e os valores empregados no planejamento estão apresentados na Tabela 13. A matriz construída para a otimização dessas variáveis, bem como os resultados obtidos de SBR para cada analito, encontram-se na Tabela 14 e os gráficos de Pareto resultantes são mostrados na Figura 8.

Tabela 13: Valores mínimo (-), máximo (+) e ponto central (0) das variáveis empregadas na otimização multivariada para introdução de amostras digeridas.

Fator	Variável	Mínimo	(0)	Máximo
		(-)		(+)
1	Potência RF, W	1300	1400	1500
2	Vazão do gás de nebulização, L min ⁻¹	0,45	0,55	0,65
3	Vazão de aspiração da amostra, mL min ⁻¹	1,0	1,5	2,0

Tabela 14: Matriz de planejamento com as respectivas respostas (SBR) para identificação das variáveis significativas na determinação direta de As, Sb e Se nas amostras em meio aquoso, por ICP OES.

Experimentos	1	2	3	SBR		
				As	Sb	Se
1	-	-	-	13,6	17,9	4,62
2	+	-	-	13,3	17,9	4,54
3	-	+	-	5,12	4,87	1,59
4	+	+	-	5,15	4,91	1,58
5	-	-	+	11,9	15,9	4,10
6	+	-	+	12,5	16,9	4,29
7	-	+	+	4,51	4,39	1,38
8	+	+	+	4,44	4,39	1,35
9	0	0	0	9,48	10,5	2,98
10	0	0	0	9,54	10,5	3,02
11	0	0	0	9,75	10,7	3,06

Fatores: 1: Potência (W); 2: Vazão do gás de nebulização (L min⁻¹); 3: Vazão de aspiração da amostra (mL min⁻¹).

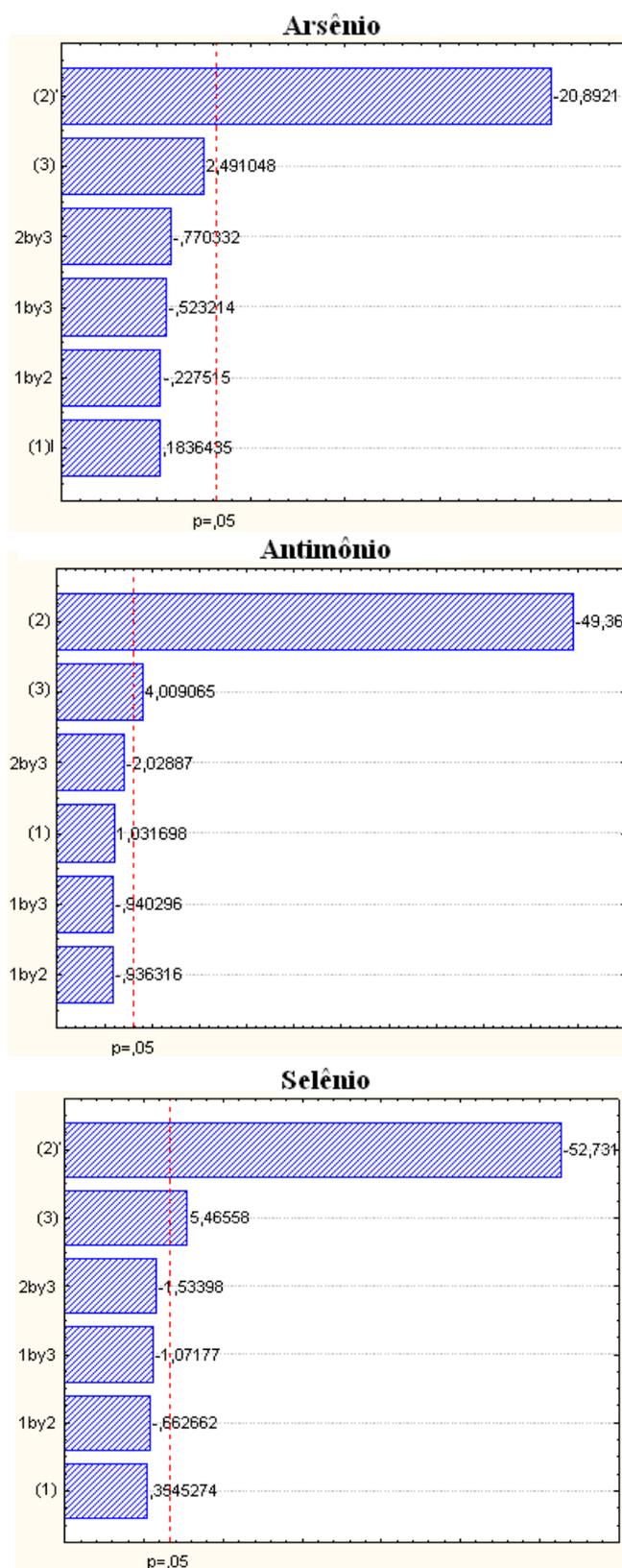


Figura 8: Gráficos de Pareto obtidos na otimização das condições operacionais para determinação de As, Sb e Se nas amostras em meio aquoso: (1) Potência (W), (2) Vazão do gás de nebulização (L min^{-1}), (3) Vazão de aspiração da amostra (mL min^{-1}).

Observa-se na Figura 8, que a vazão de nebulização do gás de arraste (2) foi o parâmetro mais importante para os três analitos estudados, o qual teve efeito negativo para todos os elementos, revelando que uma maior sensibilidade é obtida com menores valores de vazão do gás de nebulização.

A vazão de aspiração da amostra (3) teve certa relevância no estudo de otimização proposto, para Sb e Se. Os resultados gerados apontam para a escolha do valor máximo empregado neste parâmetro, pois o efeito gerado foi positivo para ambos.

Entretanto, em se tratando do parâmetro potência (1) não foi verificada relevância na otimização proposta. Para os três elementos, as barras (1) se encontram abaixo da linha p , para um nível de confiança de 95%, e apresentaram efeito positivo para todos os elementos.

De acordo com o que foi exposto acima, foram escolhidos os valores a serem fixados para cada parâmetro avaliado nesta otimização. Sendo assim, a vazão do gás de nebulização, que teve efeito negativo para os três analitos, foi fixada em $0,45 \text{ L min}^{-1}$, o qual foi o valor mínimo empregado. A vazão de aspiração da amostra foi mantida constante em $2,0 \text{ mL min}^{-1}$, valor máximo dos experimentos, pois mostrou ter efeito positivo e relevante para Sb e Se. A potência teve efeito positivo para As, Sb e Se, mas não significativo. Assim como no estudo realizado para otimização por introdução direta por diluição em xileno, o valor máximo, 1500 W , foi escolhido a fim de se obter máxima sensibilidade.

5.2.2

Limites de detecção para introdução direta de soluções aquosas

Nessas condições (potência de RF: 1500 W ; vazão do gás de nebulização: $0,45 \text{ L min}^{-1}$ e vazão de aspiração da amostra: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$), foram determinados os limites de detecção do método para cada analito, a partir de uma curva de calibração aquosa. Os LODs obtidos foram, em $\mu\text{g kg}^{-1}$: 12 para As, 11 para Sb e 20 para Se.

Novamente, os LODs encontrados para os analitos nas amostras decompostas não foram suficientemente baixos para compensar a diluição inerente ao procedimento de preparação da amostra e permitir a determinação dos mesmos, tanto nas amostras de biodiesel, como de óleo cru, mesmo empregando o mínimo de diluição possível na preparação das mesmas. Nesse caso, os LOQs obtidos correspondem a aproximadamente $280 \mu\text{g kg}^{-1}$ para As,

260 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para Sb e 470 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para Se nas amostras. Embora os LOQs obtidos nesse caso tenham sido melhores para Sb e Se do que aqueles obtidos na análise das soluções diluídas em xileno, esses valores ainda são muito altos para permitir a quantificação desses analitos nas amostras de biodiesel e óleo cru, confirmando a necessidade de se empregar métodos mais sensíveis.

5.3

Introdução das amostras decompostas em meio ácido por Geração de Vapor

Conforme já mencionado, a introdução de amostras por geração de vapor permite a obtenção de maior sensibilidade na determinação dos elementos formadores de hidretos. Para isso, é importante que se faça uma pré-redução dos analitos antes da reação com o NaBH_4 , de maneira a convertê-los a sua forma reduzida, que gera preferencialmente o hidreto. Assim, a fim de estabelecer um procedimento que possa ser utilizado para a redução dos três analitos em uma análise simultânea, foram avaliadas três condições de pré-redução: com HCl, com tiouréia e com a mistura de ácido ascórbico e KI. Para esses três agentes redutores, foram também avaliadas diferentes concentrações e o efeito do aquecimento.

Para tanto, foram feitos testes preliminares para definir as variáveis a serem otimizadas e estudos univariados para definir os intervalos a serem empregados na otimização multivariada.

5.3.1

HCl como pré-redutor

5.3.1.1

Estudos preliminares – condições da pré-redução

A pré-redução com HCl a quente é um procedimento simples, que emprega um reagente comum na maioria dos laboratórios e recomendado em vários trabalhos,¹³⁰⁻¹³² tendo sido, portanto, avaliado neste estudo. Na maioria dos trabalhos publicados, a solução analítica é aquecida em temperaturas em torno de 70 a 110 °C por 20 minutos¹³³⁻¹³⁷ e, por isso, foram também utilizados nesse trabalho, empregando a temperatura de 100 °C. O efeito da concentração do HCl

nas respostas analíticas (SBR) para As, Sb e Se em solução aquosa contendo $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito está mostrado na Figura 9.

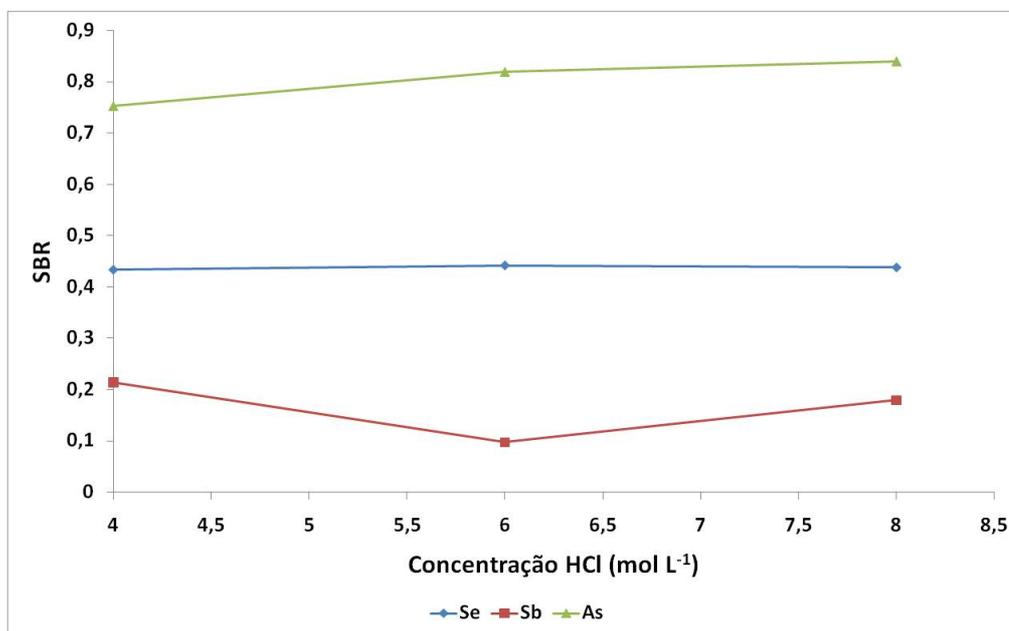


Figura 9: Efeito da variação da concentração de HCl na geração de hidreto.

Embora os valores de SBR obtidos para Sb tenham sido baixos e os comportamentos dos analitos não tenham variado muito dentro do intervalo empregado, o estudo realizado mostrou que existe a possibilidade de analisar os três analitos utilizando apenas HCl na etapa de pré-redução e que uma otimização mais cuidadosa das condições empregadas pode melhorar a sensibilidade, principalmente para Sb.

A queda na SBR do Sb na concentração de 6 mol L^{-1} de HCl, mostrada na Figura 9, pode indicar alguma perda desse analito durante o procedimento de preparo da solução ou que esse comportamento reflete a variação das medidas, uma vez que, por ser um estudo preliminar, foi feita somente uma replicata de cada condição.

5.3.1.2 Estudos preliminares – condições da geração e introdução dos hidretos

Com a finalidade de identificar os intervalos que seriam empregados na otimização multivariada, foram feitos estudos univariados verificando as

tendências geradas na avaliação das variáveis envolvidas na geração e introdução dos hidretos: vazão do NaBH_4 , vazão da amostra e vazão do gás de arraste.

Sabe-se que o sistema de geração de vapor é diretamente influenciado pelos diferentes parâmetros operacionais do equipamento, como também por aqueles relativos à formação do hidreto. Como o NaBH_4 é empregado em vários artigos publicados em concentrações próximas a 1%,^{9,138-140} esta concentração foi adotada nesta otimização e seu efeito foi avaliado modificando sua vazão. A potência do equipamento foi fixada em 1500 W, uma vez que, em um plasma mais energético, a quantidade de átomos excitados aumenta, elevando a emissão de radiação e a intensidade do sinal, ou seja, de maneira geral, quanto maior a potência RF, maior a sensibilidade obtida, e como a máxima permitida pelo equipamento é 1500 W, esta foi a potência escolhida. A vazão do Ar principal e Ar auxiliar foram fixadas em 15 L min^{-1} e $0,2 \text{ L min}^{-1}$, respectivamente, que são as normalmente empregadas na maioria das análises.

Primeiramente, foram avaliados os resultados gerados quando se variava a vazão do NaBH_4 (de $0,5$ a $3,0 \text{ mL min}^{-1}$, com incrementos de $0,5 \text{ mL min}^{-1}$), mantendo-se fixas a vazão da amostra em $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ e do gás de arraste em $0,7 \text{ L min}^{-1}$, valores selecionados a partir das condições normalmente empregadas na literatura.^{10,106,128,141} Os resultados gerados nesta avaliação, para As, Sb e Se em solução aquosa contendo $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito, se encontram na Figura 10.

Como pode ser observado na Figura 10, o Sb, que foi o analito com menores valores de SBR, apresentou aumento na sensibilidade com o aumento da vazão de NaBH_4 , com máximo em $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ e estabilização em vazões a partir dessa. Embora As e, mais ainda, Se tenham apresentado diminuição nos valores de SBR com o aumento da vazão de NaBH_4 , esta foi a vazão escolhida para os demais estudos, como uma condição de compromisso para favorecer o Sb.

Prosseguindo o estudo, variou-se a vazão da amostra (entre $1,0$ e $4,5 \text{ mL min}^{-1}$, com incrementos de $0,5 \text{ mL min}^{-1}$), mantendo-se fixas as vazões de NaBH_4 ($1,5 \text{ mL min}^{-1}$) e de gás de arraste ($0,7 \text{ L min}^{-1}$). Os resultados obtidos com este estudo são apresentados na Figura 11.

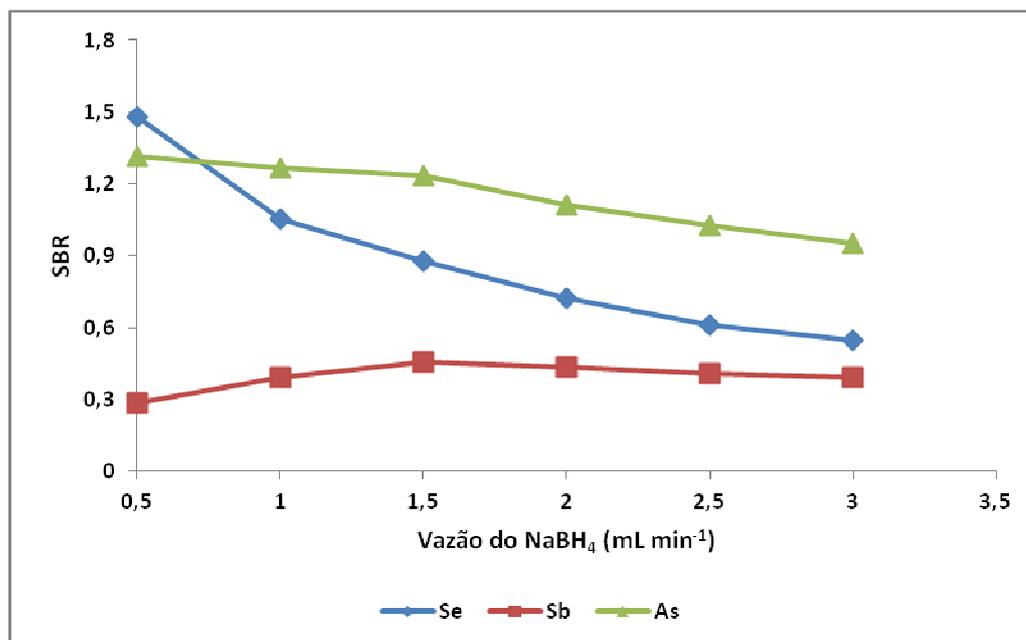


Figura 10: Estudo univariado da vazão do NaBH₄, mantendo-se fixas as vazões da amostra (1,0 mL min⁻¹) e do gás de arraste (0,7 L min⁻¹).

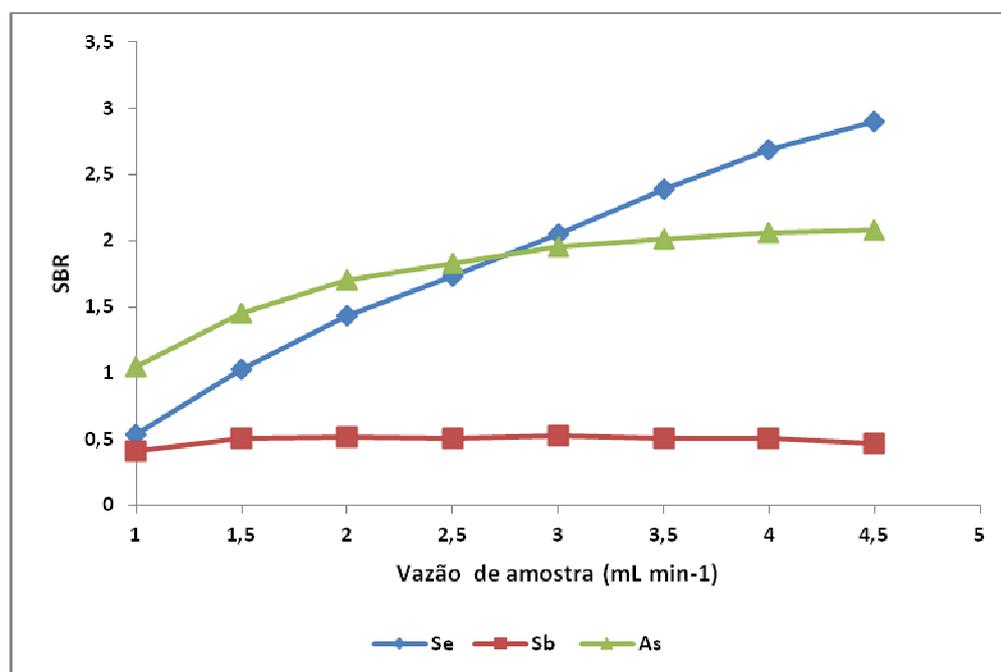


Figura 11: Estudo univariado da variação da vazão amostra, mantendo-se fixas as vazões de NaBH₄ (1,5 mL min⁻¹) e de gás de arraste (0,7 L min⁻¹).

Os resultados gerados no estudo da variação da vazão da amostra mostraram que o aumento deste parâmetro melhorou a sensibilidade de sinal de Se durante todo o intervalo, entretanto, para As o aumento foi mais significativo para vazões mais baixas, estabilizando a partir de vazões em torno de 3,0 mL min⁻¹. Para Sb, não foram observadas melhorias perceptíveis na SBR com o aumento da vazão. Assim, como não houve melhora nem prejuízo para As e Sb, foi empregado o máximo empregado neste estudo, 4,5 mL min⁻¹, para o estudo da variação do gás de arraste.

Por fim, estudou-se a variação do gás de arraste (entre 0,3 e 1,2 L min⁻¹, com incrementos de 0,1 L min⁻¹), mantendo-se constantes as vazões da amostra (4,5 mL min⁻¹) e de NaBH₄ (1,5 mL min⁻¹). Vazões de gás de arraste menores que 0,3 L min⁻¹ não podem ser utilizadas, pois superaquecem o injetor. A Figura 12 mostra os resultados obtidos neste estudo.

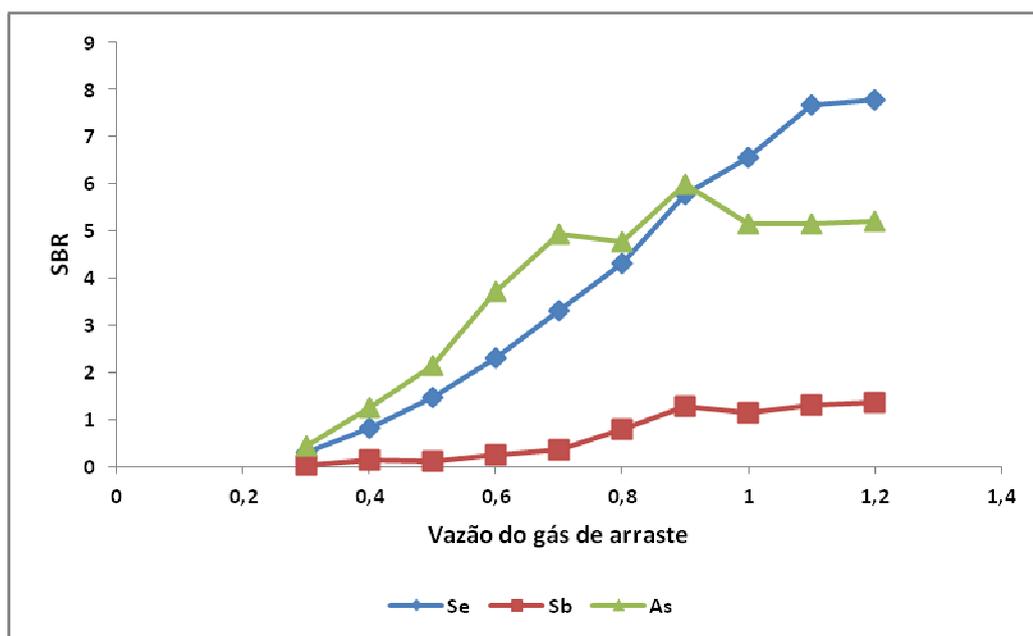


Figura 12: Estudo univariado da variação da vazão do gás de arraste, mantendo-se fixas as vazões da amostra (4,5 mL min⁻¹) e de NaBH₄ (1,5 mL min⁻¹).

A Figura 12 revela que o aumento do gás de arraste melhora os sinais de resposta para todos os analitos. Entretanto, o aumento desta vazão diminui a robustez do plasma, o que implica em um plasma mais susceptível a variações. Com isso, foi avaliado também o efeito da vazão do gás de arraste nos LODs dos analitos. A Figura 13 mostra os resultados gerados para a mesma faixa

estudada anteriormente, mas avaliando-se o LOD como parâmetro de resposta. Os resultados de LOD obtidos mostraram que melhor sensibilidade foi obtida para os três analitos simultaneamente, na região entre 0,6 e 1,0 mL min⁻¹.

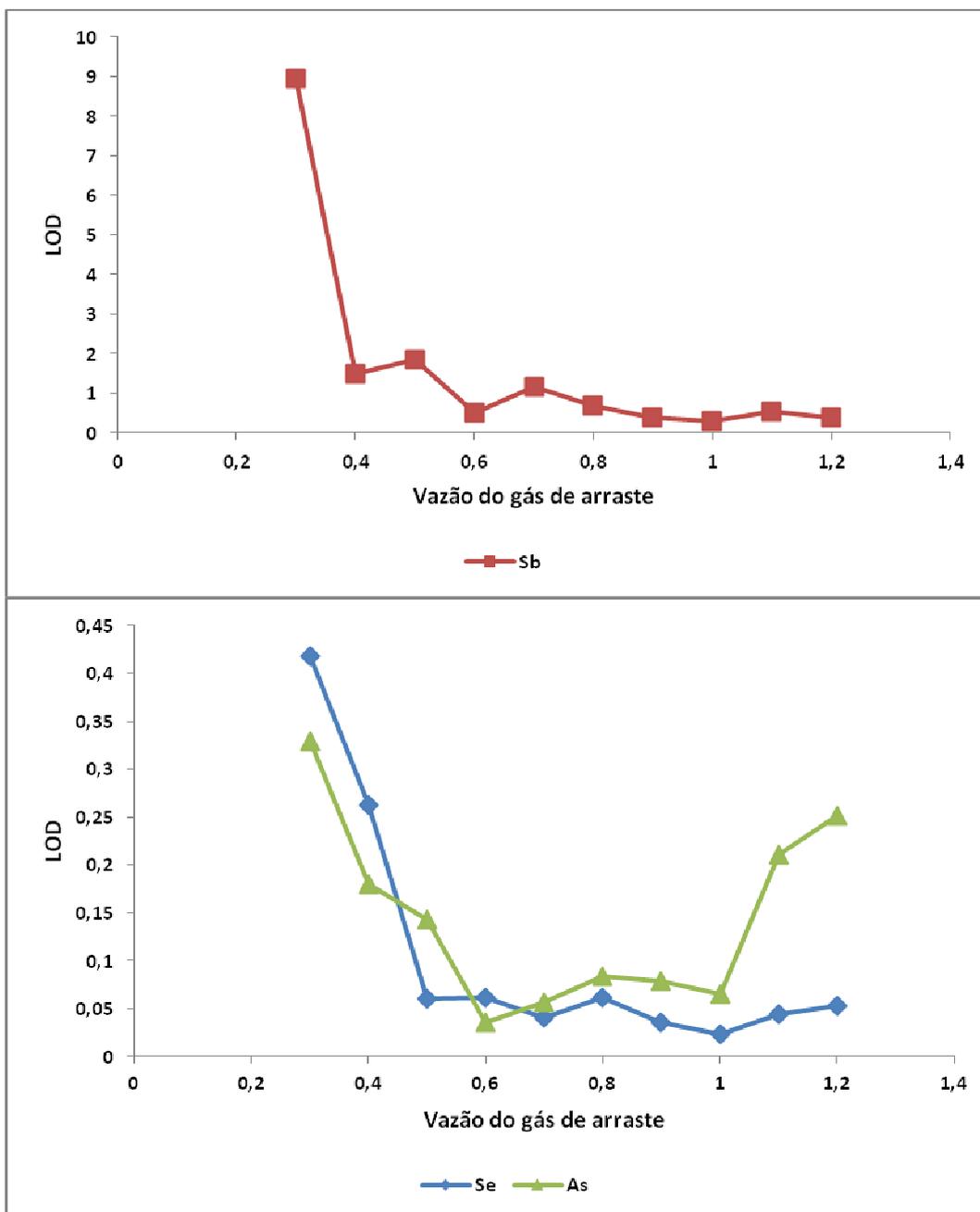


Figura 13: Estudo univariado da variação da vazão do gás de arraste sobre os LOD dos analitos na solução analítica, mantendo-se fixas as vazões da amostra (4,5 mL min⁻¹) e de NaBH₄ (1,5 mL min⁻¹).

5.3.1.3 Otimização multivariada

Como observado nos testes preliminares das condições de pré-redução, o emprego do HCl e do aquecimento geraram sinais de resposta relativamente baixos para Sb, o que pode indicar uma baixa eficiência na formação de hidreto desse elemento nessas condições. Apesar disso, a otimização multivariada foi realizada para tentar conseguir uma condição de compromisso em que ocorra uma melhoria para esse analito e em que os três elementos possam ser determinados simultaneamente.

Através do estudo univariado, escolheram-se os intervalos de estudo para a otimização multivariada. As variáveis otimizadas (vazão do NaBH₄, vazão da amostra, vazão do gás de arraste e concentração do HCl), juntamente com os intervalos empregados, encontram-se na Tabela 15. Essas otimizações foram feitas com uma solução aquosa contendo 20 µg L⁻¹ de cada analito.

O intervalo de concentração do HCl foi o mesmo empregado no estudo de pré-redução, entre 4 e 8 mol L⁻¹ (Figura 9). A vazão de NaBH₄ mostrou melhorar as respostas para As, Sb e Se no intervalo entre 0,5 e 1,5 mL min⁻¹ (Figura 10), sendo portanto, o intervalo de valores escolhido para esse parâmetro na otimização multivariada. Para a vazão de aspiração da amostra, os melhores ganhos nas respostas analíticas para As e Se foram obtidos entre 2,5 e 4,5 mL min⁻¹, portanto esta foi a faixa selecionada, já que não houve variação significativa para o Sb. Já a vazão do gás de arraste foi variada entre 0,6 e 1,2 mL min⁻¹, um pouco além dos limites indicados no estudo univariado.

Os resultados do planejamento experimental nos valores de SBR medidos para cada experimento realizado são apresentados na Tabela 16, nos gráficos de Pareto para os efeitos principais e suas combinações apresentados na Figura 14 e nos gráficos de superfície de resposta para As, Sb e Se que se encontram nas Figuras 15, 16 e 17, respectivamente.

Tabela 15: Valores mínimo, máximo e ponto central (0) das variáveis empregadas na otimização multivariada para determinação de As, Sb e Se por VG-ICP OES, com pré-redução com HCl.

Fator	Variável	Mínimo	(0)	Máximo
		(-)		(+)
1	Vazão de aspiração da amostra, mL min ⁻¹	2,5	3,5	4,5
2	Vazão do NaBH ₄ , mL min ⁻¹	0,5	1	1,5
3	Vazão do gás de arraste, L min ⁻¹	0,8	1,0	1,2
4	Concentração de HCl, mol L ⁻¹	4,0	6,0	8,0

Tabela 16: Matriz de planejamento e resultados de SBR medidos, para a identificação das variáveis significativas na determinação de As, Sb e Se por VG-ICP OES, com pré-redução com HCl.

Experimentos	Fatores				SBR		
	1	2	3	4	As	Sb	Se
1	-	-	-	-	1,01	0,34	2,76
2	+	-	-	-	1,02	0,37	5,35
3	-	+	-	-	1,85	0,86	2,21
4	+	+	-	-	1,94	0,82	4,36
5	-	-	+	-	0,42	0,19	2,61
6	+	-	+	-	0,42	0,22	5,15
7	-	+	+	-	0,96	0,68	2,86
8	+	+	+	-	1,12	0,60	5,35
9	-	-	-	+	1,18	1,06	3,16
10	+	-	-	+	1,07	1,15	5,95
11	-	+	-	+	2,09	0,94	2,55
12	+	+	-	+	2,18	1,13	4,47
13	-	-	+	+	0,46	0,44	3,03
14	+	-	+	+	0,45	0,52	5,53
15	-	+	+	+	1,04	0,59	2,91
16	+	+	+	+	1,05	0,67	5,22
17	0	0	0	0	1,30	0,24	4,66
18	0	0	0	0	1,34	0,26	4,68
19	0	0	0	0	1,33	0,21	4,68

Fatores: 1: Vazão da amostra (mL min⁻¹); 2: Vazão do NaBH₄ (mL min⁻¹); 3: Vazão do gás de arraste (L min⁻¹); 4: Concentração de HCl (mol L⁻¹).

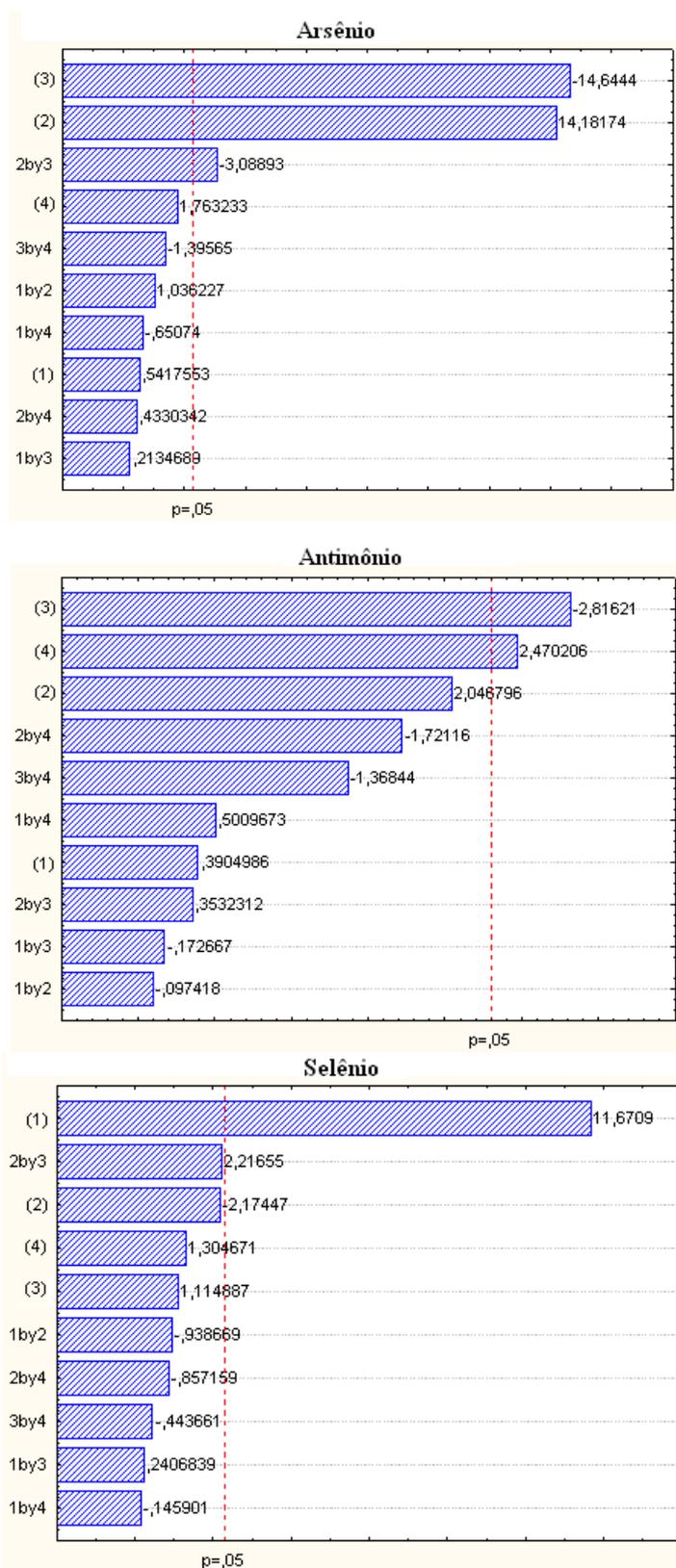


Figura 14: Gráficos de Pareto obtidos na otimização da geração de vapor de As, Sb e Se, com pré-redução com HCl: (1) Vazão de amostra (mL min^{-1}), (2) Vazão do NaBH_4 (mL min^{-1}), (3) Vazão do gás de arraste (L min^{-1}), (4) Concentração do HCl (mol L^{-1}).

Arsênio

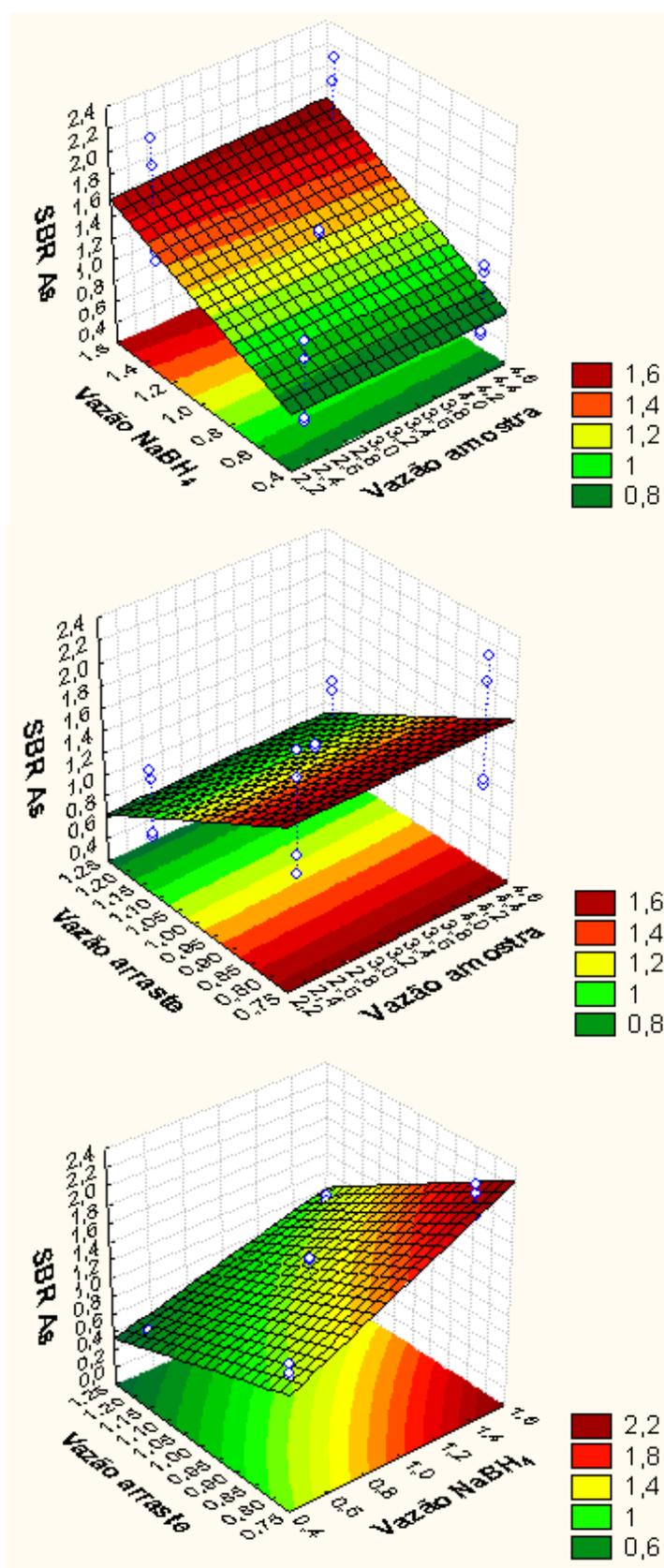


Figura 15: Gráficos de superfície de resposta para As, obtidos na otimização da geração de vapor com pré-redução com HCl.

Antimônio

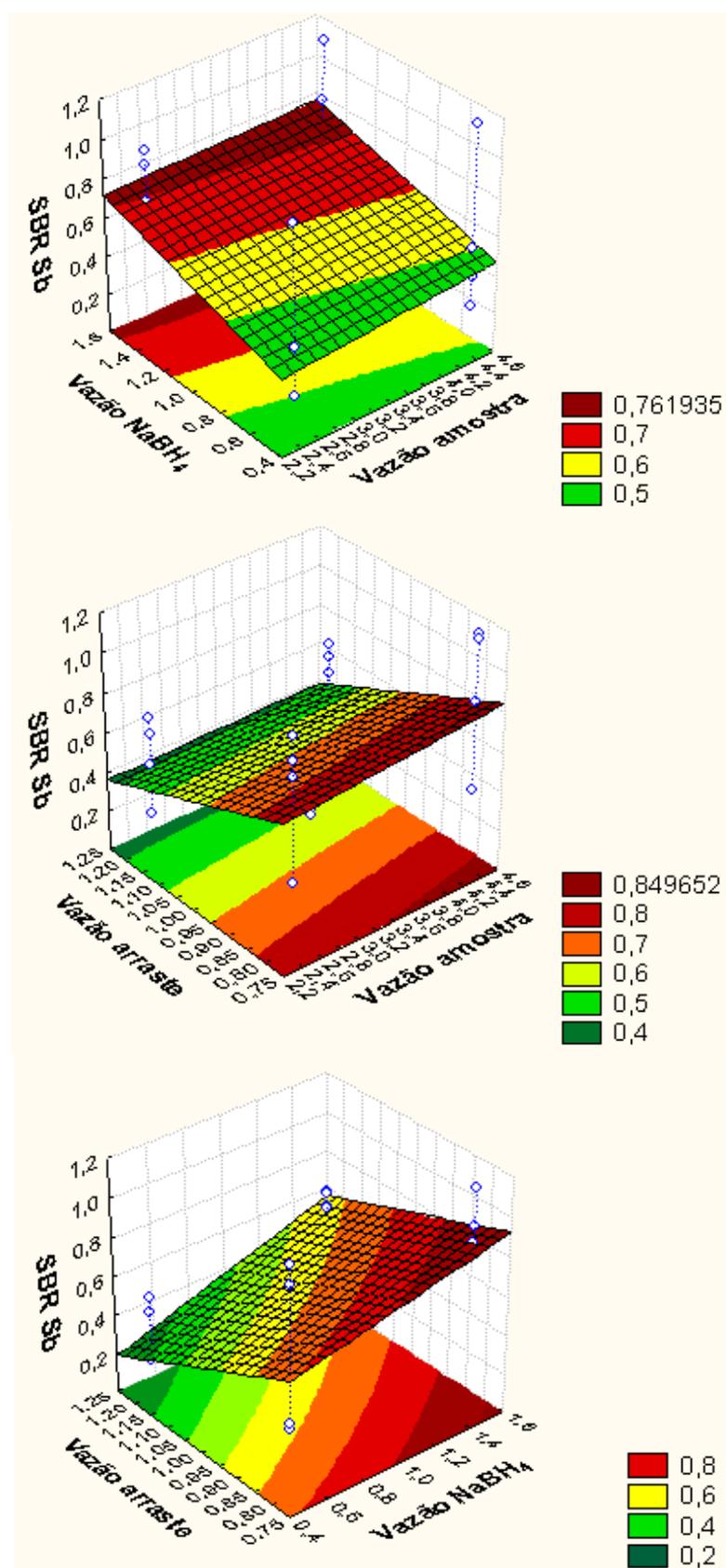


Figura 16: Gráficos de superfície de resposta para Sb, obtidos na otimização da geração de vapor com pré-redução com HCl.

Selênio

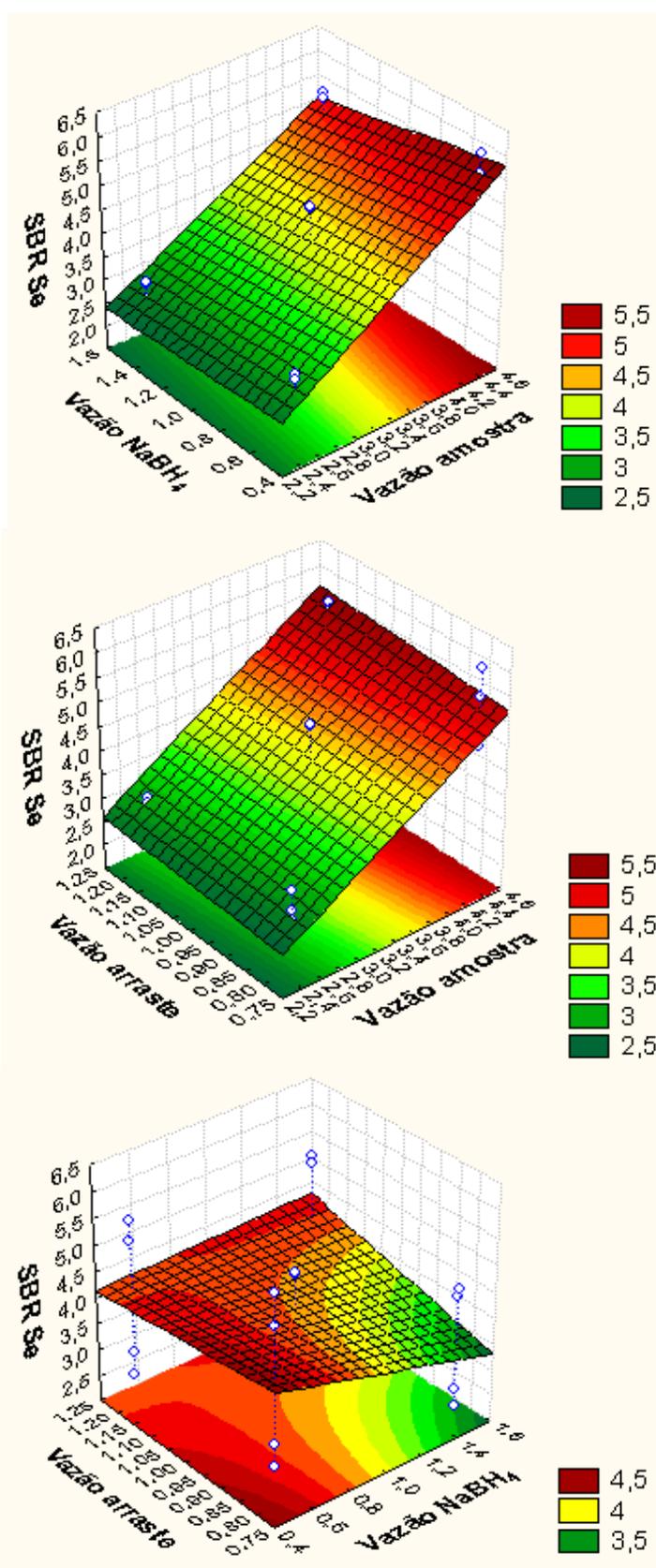


Figura 17: Gráficos de superfície de resposta para Se, obtidos na otimização da geração de vapor com pré-redução com HCl.

Como pode ser observado nos gráficos de Pareto (Figura 14), todos os fatores avaliados se mostraram estatisticamente significativos, dependendo do elemento, nos intervalos estudados nesta otimização. Também foi verificada interação significativa entre a vazão de NaBH_4 (2) e a vazão do gás de arraste (3). De acordo com os resultados obtidos, foi escolhida uma condição de compromisso para a maior sensibilidade para os analitos, a fim de realizar a determinação dos limites de detecção, a verificação de interferências e análises das amostras. Para a escolha das condições de compromisso a serem empregadas no método proposto, foram respeitadas as tendências apresentadas na otimização multivariada e as limitações da técnica e do equipamento utilizado.

A vazão de aspiração da amostra (1) se mostrou relevante apenas na determinação do Se, com efeito positivo, indicando que o valor máximo ($4,5 \text{ mL min}^{-1}$) para este parâmetro deve ser empregado. Já a vazão do gás de arraste (3) foi determinante para Sb e As, devendo ser usado o valor mínimo ($0,8 \text{ L min}^{-1}$) para melhores respostas analíticas. A concentração de HCl (4) também mostrou efeito positivo, significativo na otimização para o Sb, sendo então escolhido o valor máximo (8 mol L^{-1}) para as análises.

Em se tratando da vazão de NaBH_4 (2), os resultados obtidos revelaram que esta variável foi significativa para As, mas relativamente importante para Se e Sb. Entretanto, não houve uma concordância entre as tendências apresentadas para os diferentes analitos. Sendo assim, optou-se por fixar tal parâmetro de acordo com os resultados gerados para As e Sb, pois o primeiro se mostrou significativamente afetado por tal efeito e o Sb se comportou como o analito crítico, quando o HCl foi empregado como pré-redutor. Como para os dois analitos o efeito foi positivo, o máximo estabelecido neste estudo foi empregado ($1,5 \text{ mL min}^{-1}$), esperando que melhores sensibilidades sejam obtidas para As e Sb.

Apesar da otimização multivariada ter indicado essas condições de compromisso para obtenção de melhores resultados, esse valor máximo de vazão de amostra empregado no planejamento, além de requerer um volume de amostra disponível para análise de aproximadamente 5 mL, quando empregado nas condições de compromisso, causou a extinção do plasma. Devido a essa incompatibilidade, escolheu-se uma vazão menor, de $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ para a introdução da amostra.

5.3.1.4

Limite de detecção (LOD) para a Geração de Hidretos, empregando HCl como pré-redutor

Nessas condições (vazão de aspiração da amostra: $3,0 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do NaBH_4 : $1,5 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do gás de arraste: $0,8 \text{ L min}^{-1}$; concentração de HCl: 8 mol L^{-1}), foram determinados os limites de detecção do método para cada analito, a partir da geração de hidreto de uma curva de calibração com adição de analito em biodiesel, com concentrações dos analitos entre 10 e $40 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Os LODs obtidos foram, em $\mu\text{g kg}^{-1}$: As: $0,2$; Sb: $0,2$ e Se $0,3$. Considerando a diluição da amostra aproximadamente $7x$, os LOQs aproximados foram, em $\mu\text{g kg}^{-1}$ de amostra: 5 para As e Sb e 7 para Se.

5.3.2

Mistura de ácido ascórbico e KI como pré-redutor

5.3.2.1

Estudos preliminares – condições da pré-redução

A mistura de ácido ascórbico e KI também tem sido empregada para a formação de hidretos a partir de amostras contendo As, Sb e Se, já em meio 6 mol L^{-1} de HCl.^{5,138} Assim, foi estudado o efeito da variação da concentração do ácido ascórbico e do tempo de aquecimento na temperatura de $100 \text{ }^\circ\text{C}$ sobre as SBR dos 3 analitos, com a concentração de KI fixada em 5 g L^{-1} . Da mesma maneira que para os estudos com HCl como agente redutor, estas otimizações foram feitas com uma solução aquosa contendo $20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito. Os resultados estão mostrados na Figura 18.

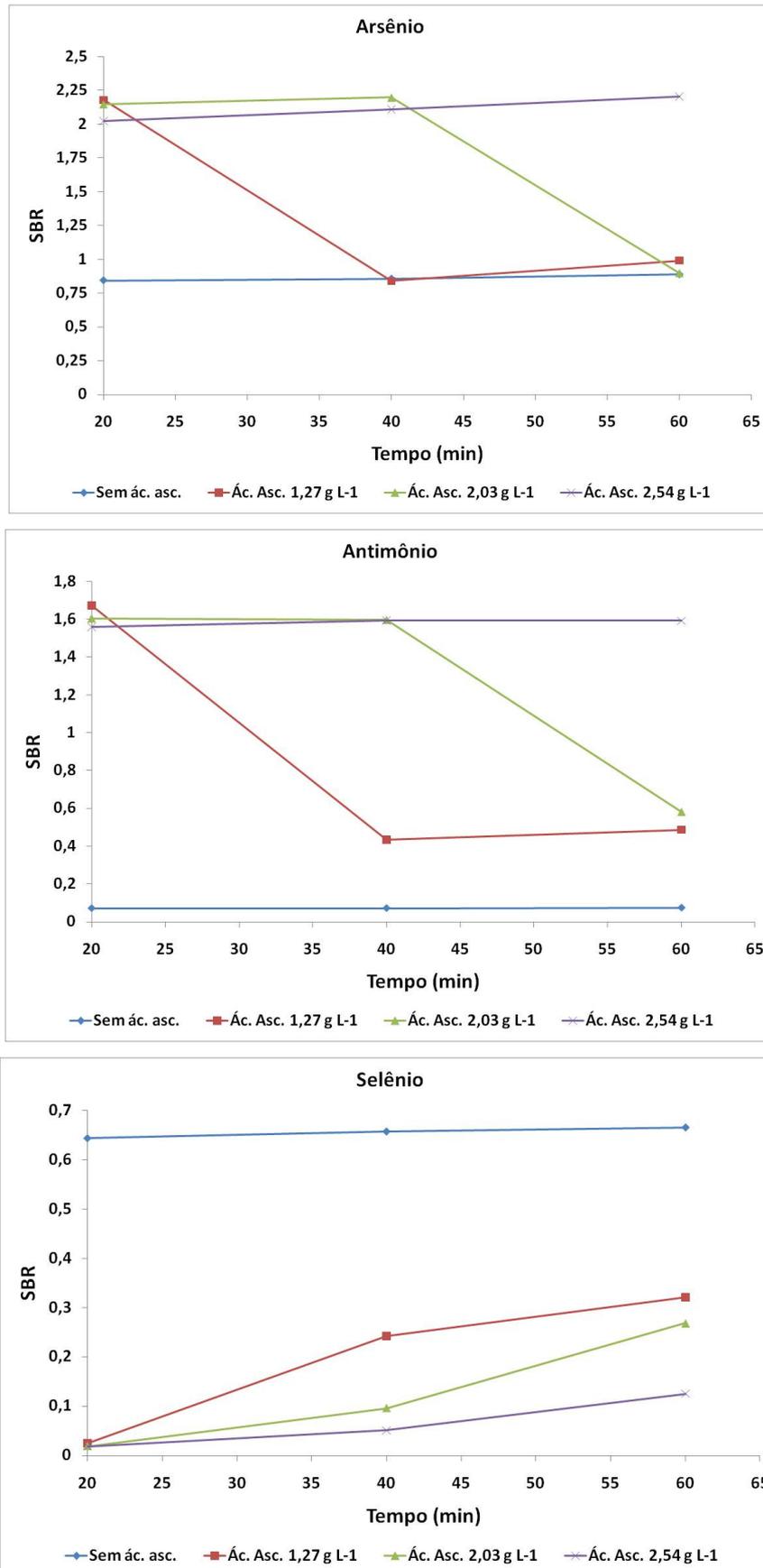


Figura 18: Efeito da variação da concentração de ácido ascórbico e do tempo de aquecimento na geração de hidreto.

Os testes realizados mostraram resultados interessantes e semelhantes para As e Sb, pois a adição de ácido ascórbico como agente redutor melhorou os sinais obtidos para estes elementos em mais de 2x para o As e mais de 10x para Sb, independente da concentração de ácido ascórbico, deixadas as soluções sob aquecimento por até 20 min. O aumento no tempo de aquecimento parece requerer uma concentração maior do ácido ascórbico para manter a estabilidade do sinal dos dois analitos, As e Sb, ou seja, uma maior concentração de ácido ascórbico fornece a esses analitos estabilidade por um maior período de tempo sob aquecimento.

Já as análises para o Se evidenciaram que a adição de ácido ascórbico prejudica significativamente a formação de seu hidreto, em qualquer concentração estudada, indicando que esse elemento é melhor determinado por geração de hidreto com a pré-redução realizada somente em HCl 6 mol L⁻¹. Embora o aquecimento tenha, nesse caso, promovido efeito contrário àquele observado para As e Sb, melhorando significativamente a sensibilidade deste analito, a condição de pré-redução só com HCl mostrou ser muito mais eficiente para Se.

Assim, como o objetivo desse trabalho é propor um método multielementar, essa condição de pré-redução não foi utilizada para outros experimentos.

5.3.3 Tiouréia como pré-redutor

A tiouréia é um potente agente redutor, entretanto, essa característica se torna sua principal desvantagem em determinações multielementares, pois é capaz de reduzir Se tetravalente até o estado elementar, que por sua vez é incapaz de formar hidreto.^{3,118,142,143} Assim, a otimização e o controle das condições operacionais são ainda mais importantes nesse caso.

5.3.3.1 Estudos preliminares – condições da pré-redução

Neste trabalho, foi proposto um estudo sobre o efeito causado pela tiouréia na formação dos hidretos dos analitos, através do aumento gradual da sua concentração, a fim de evitar a redução dos analitos até a forma elementar. Para isso, foi avaliado o aumento na concentração da tiouréia adicionada para

diferentes concentrações de HCl, respeitando um intervalo de 1 hora após a adição da tiouréia para a medida dos sinais analíticos na solução contendo $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito. A Figura 19 mostra os resultados obtidos com esse estudo.

Novamente, os comportamentos de As e Sb foram semelhantes, com aumento significativo na sensibilidade dos sinais de ambos analitos com a adição de tiouréia, não variando significativamente os resultados com o aumento da concentração de tiouréia e de HCl. Também como no caso do ácido ascórbico, a adição de tiouréia prejudicou a geração do hidreto de Se, provocando queda no seu sinal. Nesse caso, a concentração de HCl foi importante, devendo ser empregadas concentrações baixas, tanto de tiouréia quanto de HCl, que resultaram em valores de SBR não menores do que 0,2.

Em um dos poucos trabalhos de geração de hidreto acoplada ao ICP OES, Uggerud e Lund¹³⁹ determinaram As, Sb, Bi, Se e Te utilizando tiouréia para pré-redução, no entanto, antes da adição do pré-redutor, foi realizado um aquecimento por 4 h à $70 \text{ }^\circ\text{C}$ em meio de HCl 5 mol L^{-1} . Com base nessa informação, foi realizado um estudo nas mesmas condições empregadas no trabalho citado, avaliando-se possíveis melhorias na formação dos hidretos, visando também uma provável redução do tempo de aquecimento.

O tempo de aquecimento também foi estudado, não tendo sido obtida qualquer vantagem em relação à formação dos hidretos dos elementos estudados, conforme mostra a Figura 20.

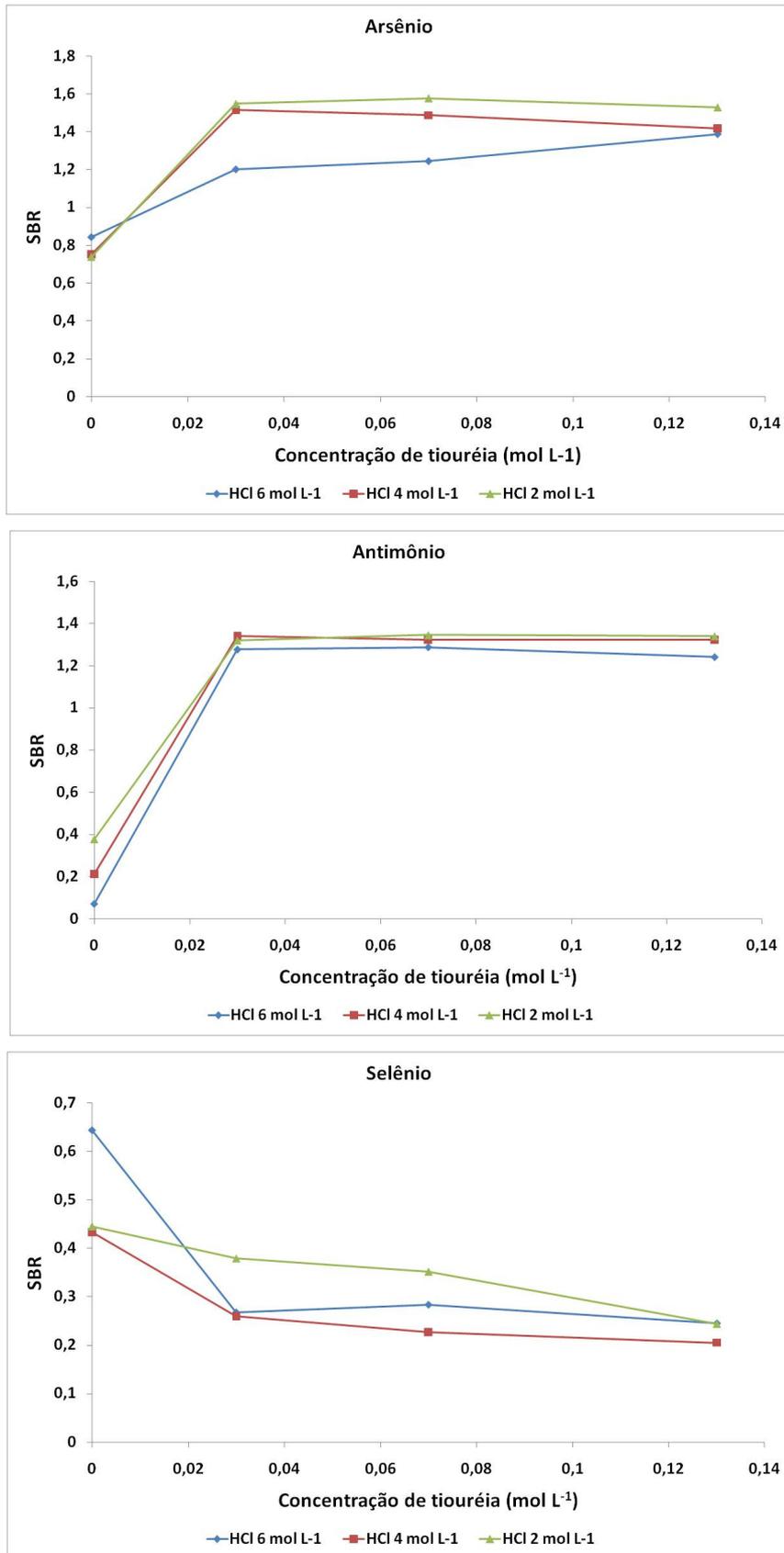


Figura 19: Efeito da variação da concentração de tiouréia nos sinais analíticos, para diferentes concentrações de HCl.

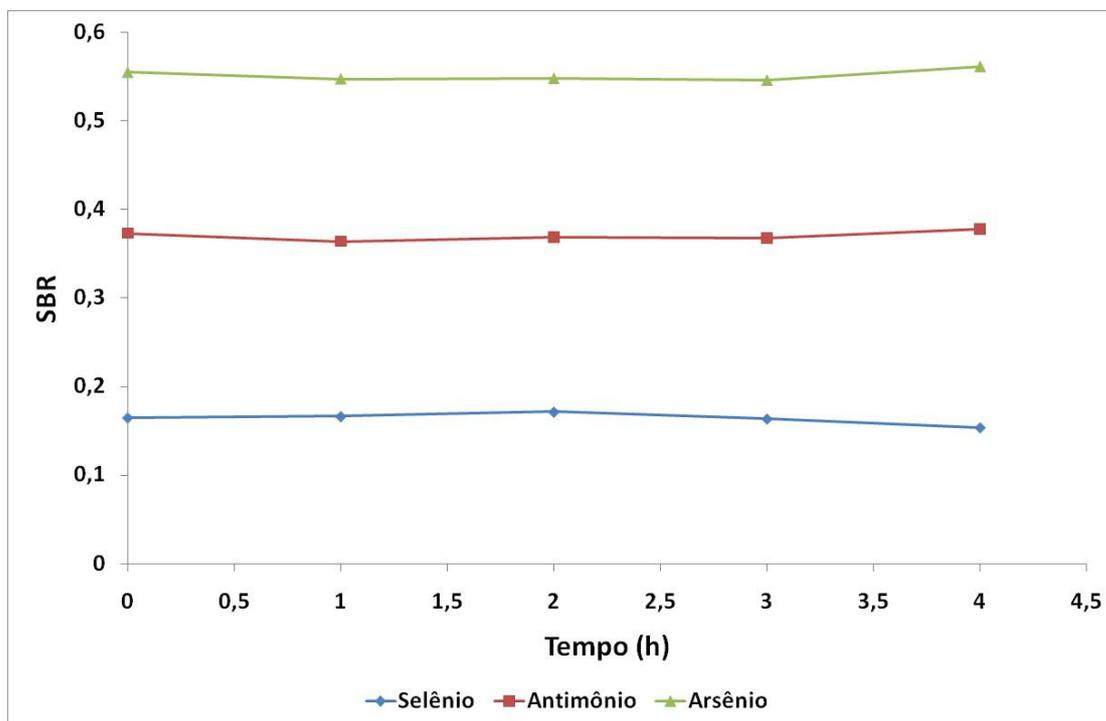


Figura 20: Efeito da variação do tempo de aquecimento na pré-redução dos analitos em solução contendo $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de As, Sb e Se e $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de tiouréia.

Em outro trabalho, Bowman e colaboradores¹¹⁸ estudaram a redução *on line* dos elementos As, Sb e Se na determinação por HG-ICP-MS. Nesse estudo, os autores avaliaram a concentração da tiouréia, levando em consideração o tempo de reação para a possível redução *on line*. Assim, foi realizado um teste, variando-se o tempo entre a adição da tiouréia e a leitura do sinal analítico da solução $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito, mantendo-se a concentração de HCl e tiouréia em 4 mol L^{-1} e $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente, sem aquecimento, o qual gerou o gráfico representado na Figura 21.

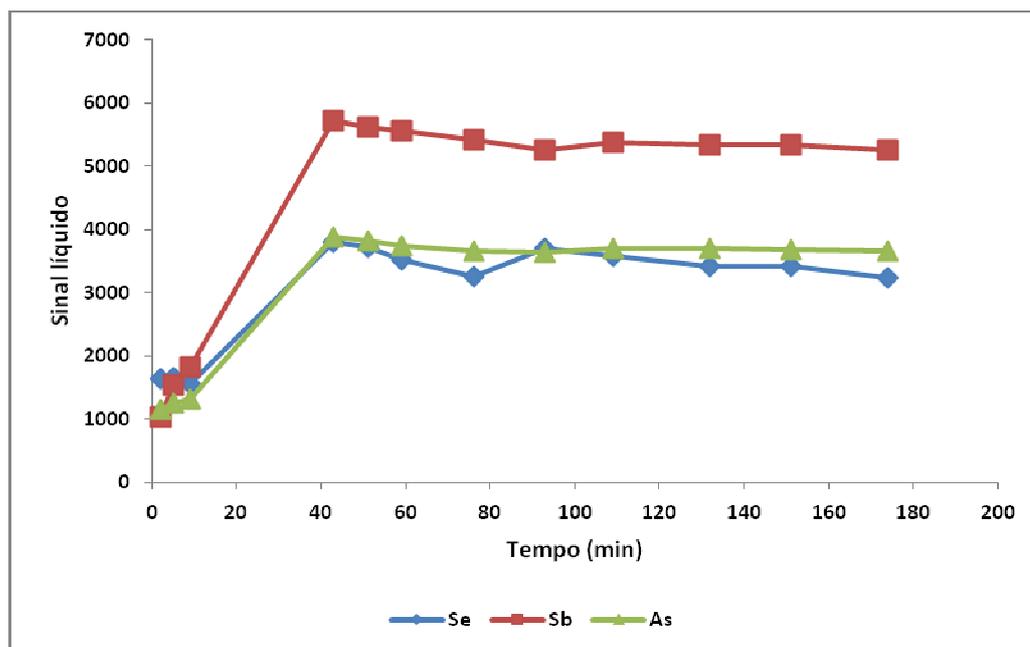


Figura 21: Efeito da variação do tempo de adição do pré-redutor (tiouréia) e posterior leitura dos analitos, em solução contendo $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de As, Sb e Se e $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de tiouréia.

O estudo mostrou que o tempo de espera entre a adição da tiouréia e a leitura dos sinais analíticos teve efeito significativo no sucesso da formação dos hidretos, sendo necessário aguardar pelo menos cerca de 45 min para se obter o máximo de eficiência na geração dos hidretos. Isso implica obviamente, que as medidas das amostras e das soluções de calibração deverão respeitar os mesmos intervalos de tempo de espera após a adição da tiouréia, caso contrário, haverá um erro significativo nas medidas.

5.3.3.2 Otimização multivariada

Assim como no uso de HCl como pré-redutor, o emprego da tiouréia também requereu uma otimização mais detalhada das condições a serem empregadas na pré-redução e dos parâmetros da geração de vapor, a partir das informações obtidas nos testes preliminares. Novamente, foram fixadas a concentração de NaBH_4 em 1% e a potência da radiofrequência em 1500 W.

Um planejamento experimental foi realizado com os seguintes parâmetros operacionais: vazão da amostra, vazão do NaBH_4 , vazão do gás de arraste, concentração de HCl e concentração de tiouréia, dessa vez, tomando o cuidado

de fazer as medidas depois de 45 min de espera, conforme indicado no item 5.3.1.3. Os resultados desse estudo, mostrados no Anexo 1, indicaram que as concentrações de HCl e tiouréia poderiam ser fixadas em 6 mol L^{-1} e $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente, como uma condição de compromisso entre os analitos e a nova otimização dos demais parâmetros (vazões da amostra, de NaBH_4 e do gás de arraste) foi realizada.

Os estudos preliminares (Anexo 1) mostraram que o aumento da vazão da amostra teve efeito positivo para todos os analitos, então foram empregadas vazões maiores de amostra no novo planejamento. Já os estudos da vazão do NaBH_4 e do gás de arraste apontaram que essas variáveis foram significativas apenas para o Sb, indicando que as melhores condições devem ser obtidas com um aumento da vazão do NaBH_4 e diminuição da vazão do gás de arraste. Assim, os novos intervalos empregados na otimização estão mostrados na Tabela 17 e a matriz do novo planejamento experimental, com os resultados de SBR obtidos em cada experimento realizado, encontram-se na Tabela 18. Os gráficos de Pareto para os efeitos principais e suas combinações são apresentados na Figura 22 e as superfícies de resposta obtidas para As, Sb e Se a partir de uma solução aquosa contendo $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito são mostradas nas Figuras 23, 24 e 25.

Tabela 17: Valores mínimo (-), máximo (+) e ponto central (0) das variáveis empregadas na otimização multivariada para determinação de As, Sb e Se por VG-ICP OES, com pré-redução com tiouréia.

Fator	Variável	Mínimo (-)	(0)	Máximo (+)
1	Vazão de aspiração da amostra, mL min ⁻¹	1,0	1,5	2,0
2	Vazão do NaBH ₄ , mL min ⁻¹	1,5	2,0	2,5
3	Vazão do gás de arraste, L min ⁻¹	0,3	0,4	0,5

Tabela 18: Matriz de planejamento para identificação das variáveis significativas na determinação de As, Sb e Se por VG-ICP OES, com pré-redução com tiouréia.

Experimentos	Fatores			SBR		
	1	2	3	As	Sb	Se
1	-	-	-	0,107	0,007	0,002
2	+	-	-	0,330	0,104	0,104
3	-	+	-	0,031	0,094	0,085
4	+	+	-	0,239	0,076	0,089
5	-	-	+	0,968	0,922	0,310
6	+	-	+	2,107	1,890	0,536
7	-	+	+	0,721	0,659	0,262
8	+	+	+	1,536	1,342	0,502
9	0	0	0	0,751	0,541	0,252
10	0	0	0	0,772	0,535	0,249
11	0	0	0	0,781	0,538	0,253

Fatores: 1: Vazão da amostra (mL min⁻¹); 2: Vazão do NaBH₄ (mL min⁻¹); 3: Vazão do gás de arraste (L min⁻¹).

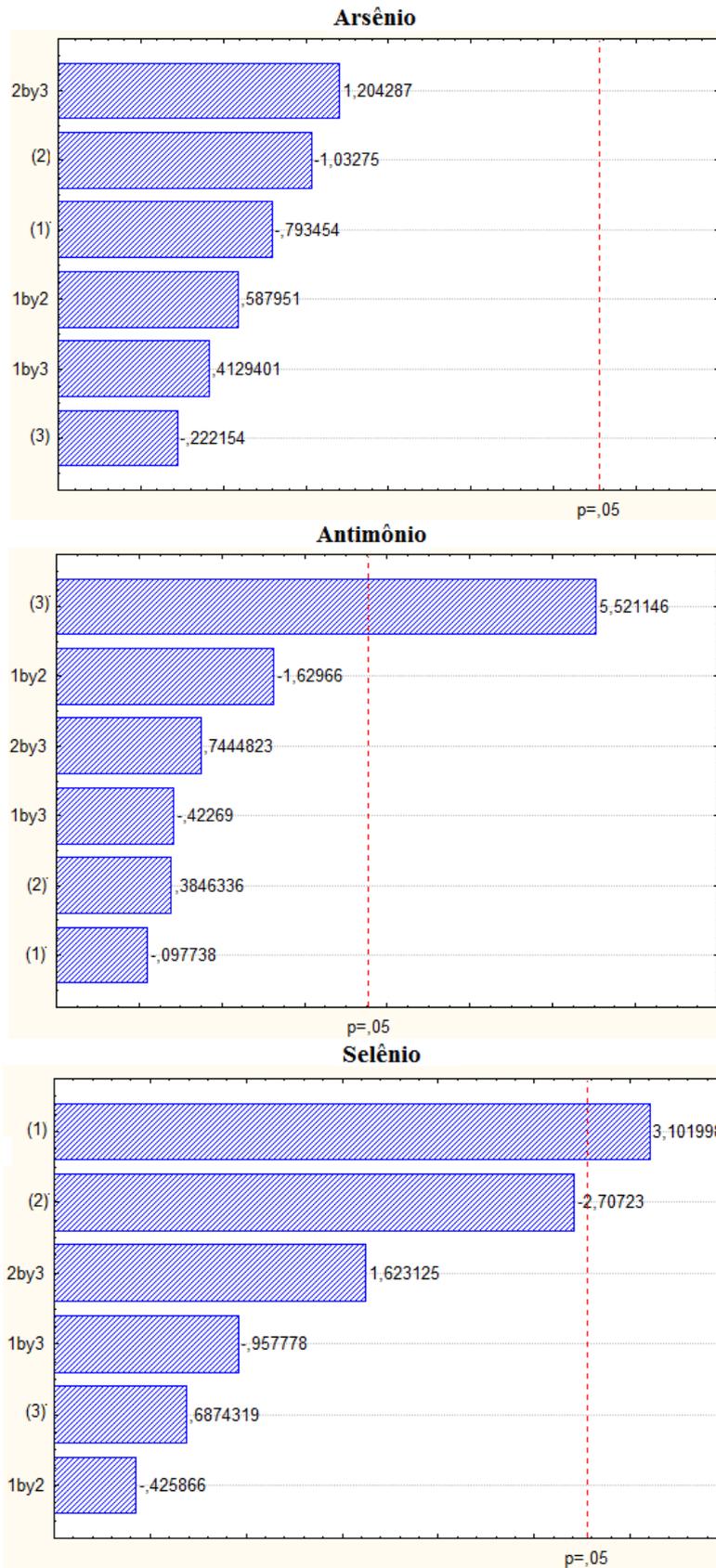


Figura 22: Gráficos de Pareto obtidos na otimização da geração de vapor de As, Sb e Se, com pré-redução com tiouréia: (1) Vazão de amostra (mL min^{-1}), (2) Vazão do NaBH_4 (mL min^{-1}), (3) Vazão do gás de arraste (L min^{-1}).

Arsênio

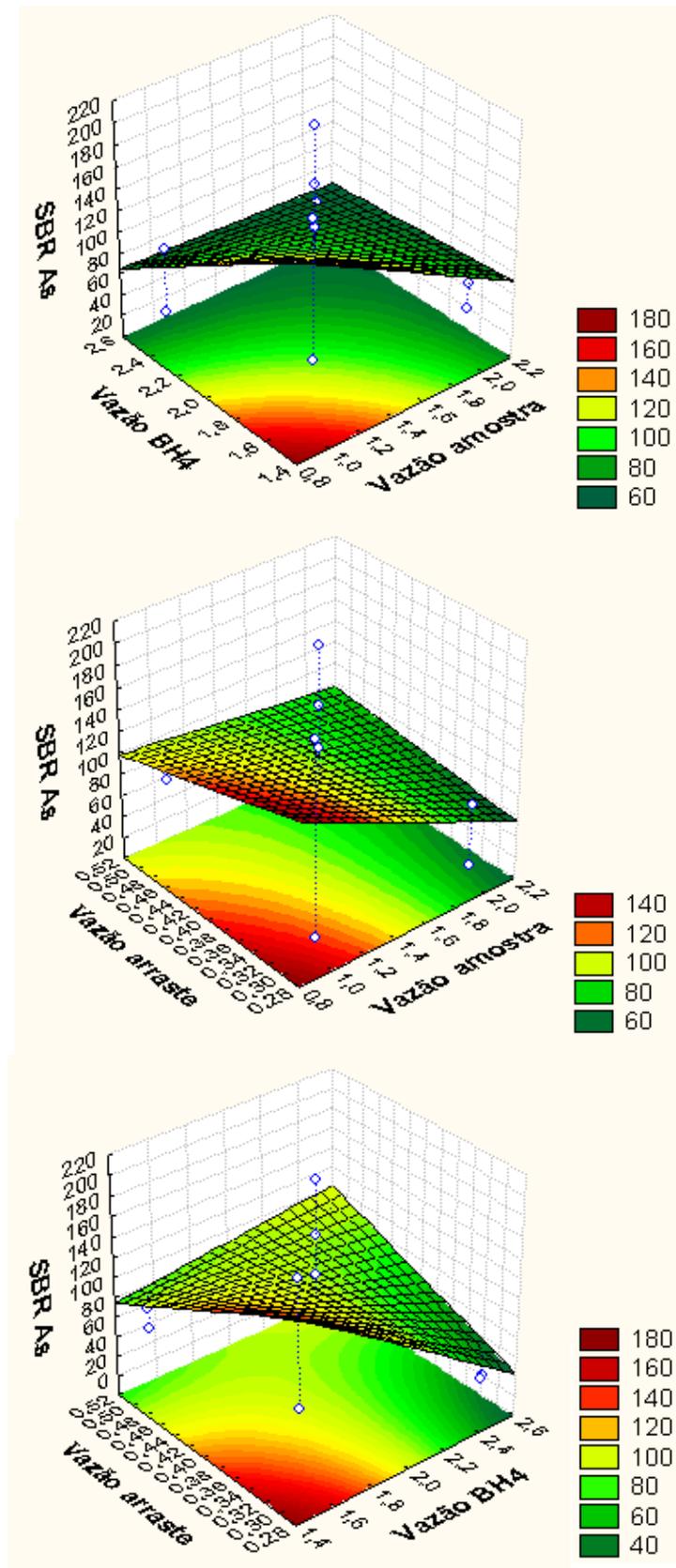


Figura 23: Gráficos de superfície de resposta para As, obtidos na otimização da geração de vapor com pré-redução com tiouréia.

Antimônio

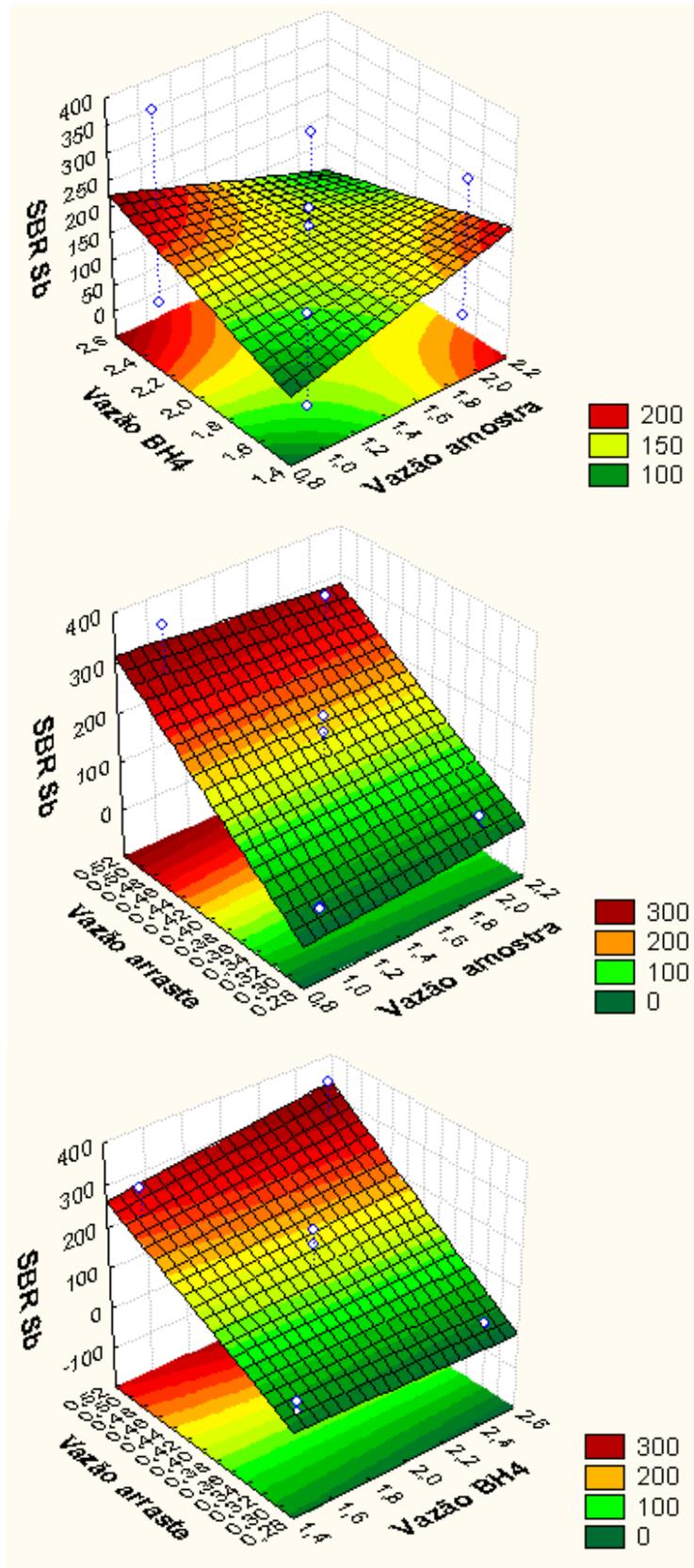


Figura 24: Gráficos de superfície de resposta para Sb, obtidos na otimização da geração de vapor com pré-redução com tiouréia.

Selênio

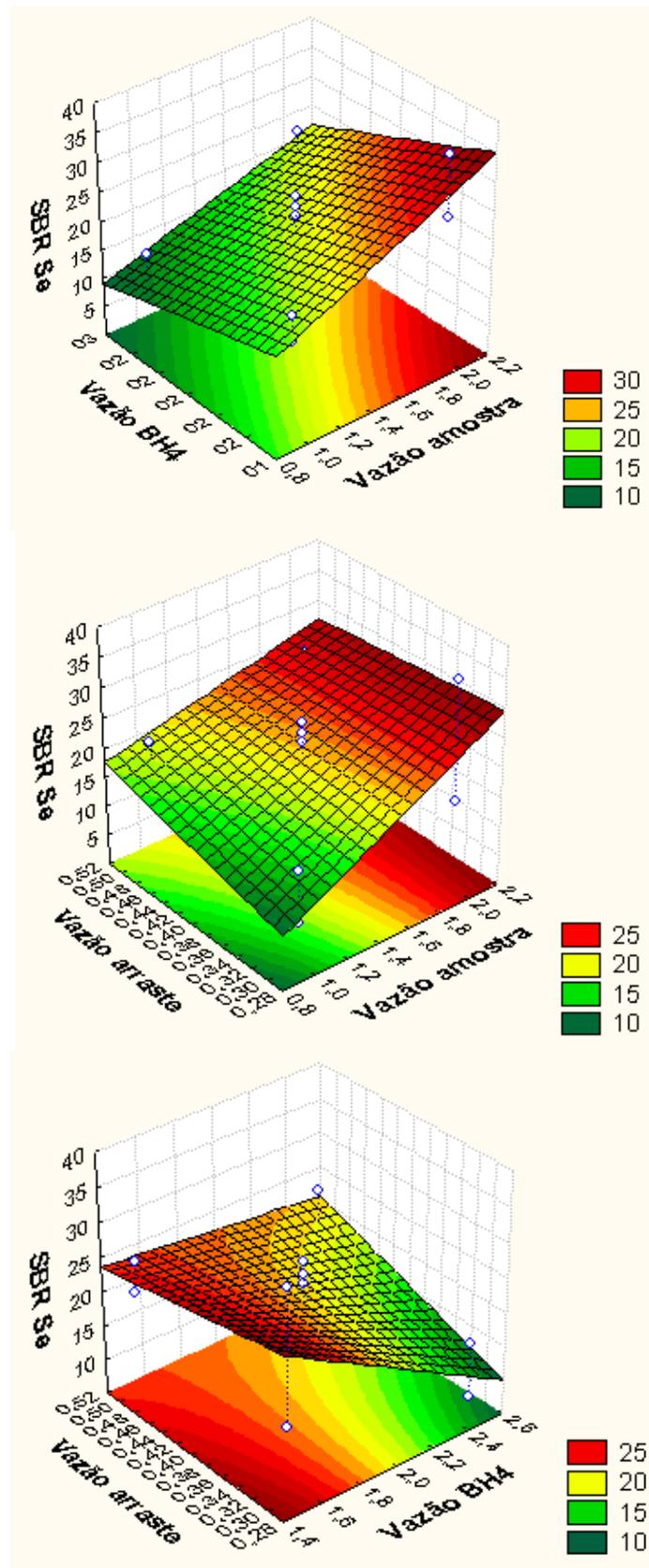


Figura 25: Gráficos de superfície de resposta para Se, obtidos na otimização da geração de vapor com pré-redução com tiouréia.

Na escolha das condições ótimas de compromisso a serem utilizadas para a determinação de As, Sb e Se por geração de vapor empregando-se a tiouréia como pré-redutor, foram priorizados as condições que geraram efeitos significativos. Nesse sentido, a vazão de amostra (1) teve efeito significativamente positivo para o Se e a vazão de gás de arraste (3) também teve efeito positivo para os Sb. Já a vazão de NaBH_4 não se teve efeito significativo para nenhum dos elementos avaliados. Entretanto, como o Se foi o elemento que mostrou o pior desempenho nos testes em que a tiouréia foi empregada como pré-redutor, e a vazão de NaBH_4 , embora com efeito abaixo da linha p, para um nível de 95% de confiança, mostrou tendência negativa para esse elemento, o que pode ser observado pelo gráfico de superfície de resposta (Figura 25), em que as menores vazões do agente redutor favorecem o sinal obtido para esse elemento. Portanto, a escolha do valor mínimo adotado a ser fixado para este parâmetro foi baseado nos resultados gerados para o Se. Para As, não houve efeito importante por nenhuma das variáveis avaliadas. Assim, foram selecionadas as seguintes vazões: amostra ($2,0 \text{ mL min}^{-1}$), gás de arraste ($0,5 \text{ L min}^{-1}$) e NaBH_4 ($1,5 \text{ mL min}^{-1}$).

5.3.3.3

Limite de detecção (LOD) para Geração de Hidretos, empregando tiouréia e HCl como pré-redutores

Nessas condições (vazão de aspiração da amostra: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do NaBH_4 : $1,5 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do gás de arraste: $0,5 \text{ L min}^{-1}$; concentração do HCl 6 mol L^{-1} e concentração da tiouréia: $0,02 \text{ mol L}^{-1}$), foram determinados os limites de detecção do método para cada analito, a partir da geração de hidreto de uma curva de calibração aquosa, com concentrações dos analitos entre $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $40 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, em meio de HCl 6 mol L^{-1} com $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de tiouréia. Os LODs obtidos, em $\mu\text{g kg}^{-1}$, foram: As: 0,4; Sb: 0,8 e Se: 0,6. Considerando a diluição da amostra em aproximadamente 7x, esses valores correspondem a LOQs de $9 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ de As, $19 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ de Sb e $14 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ de Se.

5.4 Estudo de interferência

O Ni pode ser um interferente nas determinações de As, Sb e Se, diminuindo as respostas obtidas para tais elementos. De acordo com LOPES *et al*¹⁰ o emprego de HCl mostrou-se eficiente na eliminação da interferência causada pelo Ni. Concentrações maiores deste ácido melhoram as respostas analíticas na presença deste interferente. Sendo assim, com o objetivo de verificar uma possível interferência pelo Ni nas determinações de As, Sb e Se, realizou-se um estudo empregando-se HCl 8 mol L⁻¹, juntamente com as demais condições otimizadas neste trabalho para a geração dos hidretos. Compararam-se as respostas obtidas, em SBR, para soluções contendo apenas os analitos, sem a presença de Ni, e outra contendo os mesmos analitos na presença de Ni, com concentração aproximadamente 800x maior do que a concentração dos analitos. A Figura 26 revela os resultados gerados neste estudo.

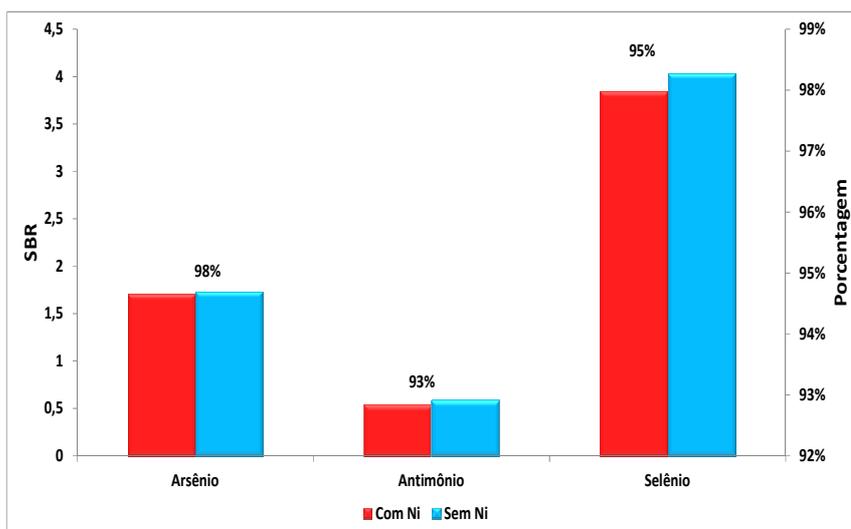


Figura 26: Resultados do estudo da interferência causada pelo Ni, em concentração 800x acima da concentração de As, Sb e Se, na determinação por HG-ICP OES.

Como pode ser observado na Figura 26, para todos os analitos estudados, a interferência devida à presença de Ni não se mostrou significativa ao empregar as condições otimizadas para a geração de vapor, obtendo-se recuperações

entre 93-95% para os três analitos. Isso indica que o uso do HCl 8 mol L⁻¹, que foi a concentração indicada na otimização para ser usada nas etapas posteriores do trabalho, foi eficiente para evitar a interferência causada pelo Ni.

5.5 Avaliação do método

Com o objetivo de avaliar a eficiência do método proposto neste trabalho, alguns parâmetros de mérito foram determinados, para garantir a confiabilidade dos resultados analíticos.

5.5.1 Linearidade e sensibilidade

A linearidade refere-se à capacidade do método em gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, em um intervalo analítico especificado. A linearidade pode ser obtida por padronização interna ou externa, e formulada como a expressão matemática (Equação 6) usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra real.

$$y = ax + b \quad (\text{Eq. 6})$$

Sendo:

y → resposta medida;

x → concentração;

a → inclinação da curva analítica = sensibilidade (s).

b → interseção com o eixo y, quando x = 0;

O método será mais sensível quando pequenas variações de concentração resultam em maior variação na resposta, ou seja, maior inclinação (a). Já a linearidade de um método pode ser observada pelo gráfico dos resultados dos ensaios em função da concentração do analito e verificada a partir da equação da regressão linear (Eq. 6), determinada pelo método dos mínimos quadrados. O coeficiente de regressão (r) ou de determinação (R²) são empregados para confirmar a relação linear existente.¹⁴⁴

A curva de calibração preparada em meio aquoso com padrões externos de As, Sb e Se é a mais simples de ser realizada, entretanto esta nem sempre é

aplicável devido a possíveis diferenças de comportamento das soluções de calibração e das amostras, causadas pela presença de compostos provenientes da matriz da amostra, que podem interferir nos processos de transporte e geração dos hidretos. Isso foi observado nas análises das amostras, nesse trabalho, pois ocorreu formação de espuma no separador gás-líquido quando se analisavam as amostras e não na análise das soluções da curva analítica aquosa. Por esse motivo, foram preparadas mais duas curvas de calibração por adição do analito preparadas a partir de alíquotas das amostras decompostas no bloco digestor, uma com uma amostra de óleo cru e outra com uma amostra de biodiesel. Na tabela 19, estão contidos os parâmetros analíticos das três curvas de calibração para os três analitos, que podem ser observadas na Figura 27.

Tabela 19: Parâmetros das curvas de calibração construídas para As, Sb e Se.

	As	Sb	Se
Curva aquosa			
s	42,46127	22,83842	114,65353
R ²	0,99987	0,99998	0,99997
Adição do analito em óleo cru			
s	40,43507	23,59004	77,94952
R ²	0,99981	0,98569	0,99978
Adição do analito em biodiesel			
s	40,99698	18,52730	77,52070
R ²	0,99989	0,99558	0,99978

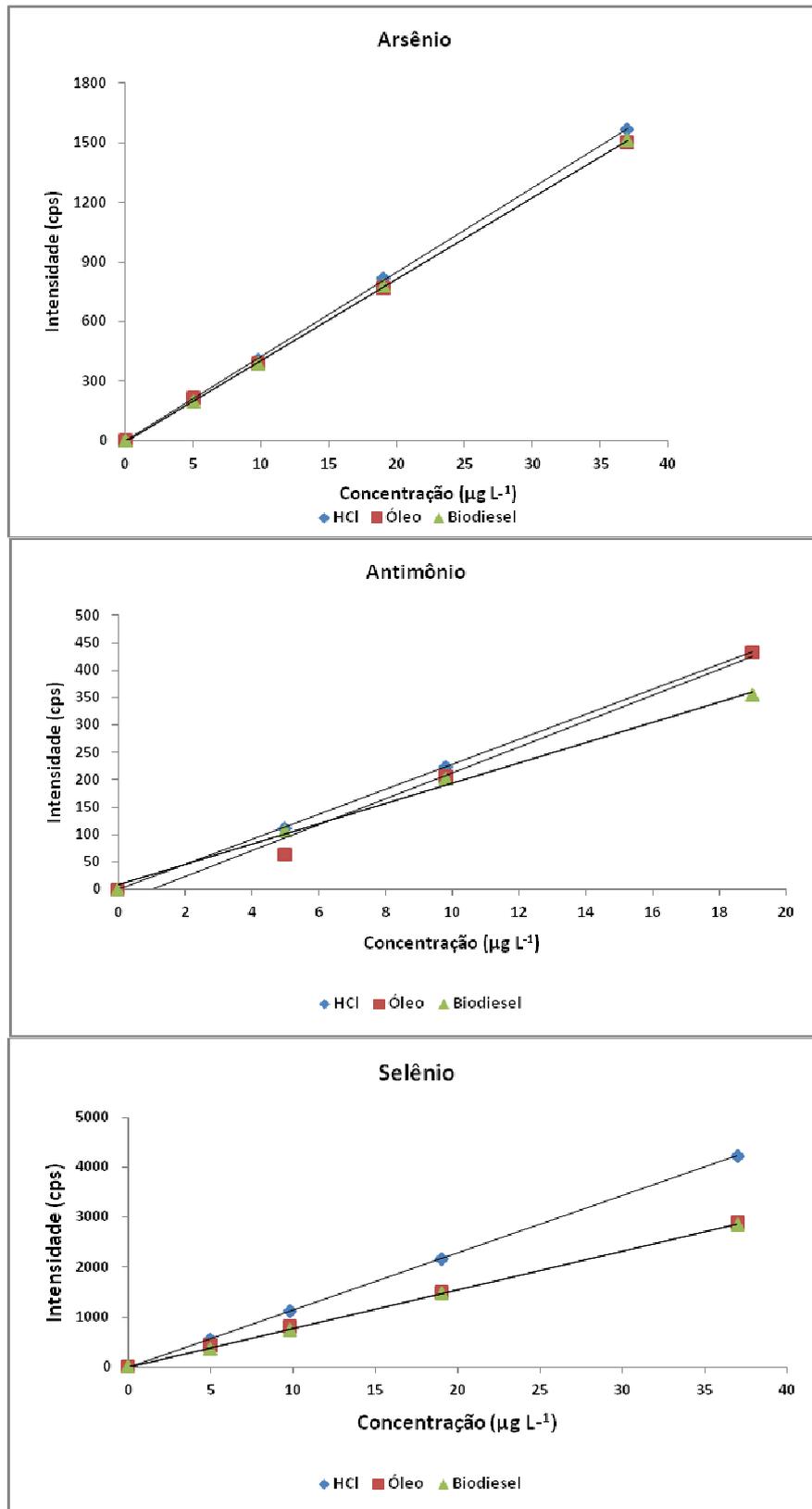


Figura 27: Curvas de calibração para As, Sb e Se: \blacklozenge calibração externa, \blacksquare adição do analito com amostra de óleo cru e \blacktriangle adição do analito com amostra de biodiesel.

Para As, as 3 curvas de calibração apresentaram comportamentos bastante semelhantes, mostrando que esse elemento não sofre interferência devida à presença da matriz, podendo ser empregada qualquer uma das curvas nas análises. Para Sb, as inclinações das 3 curvas foram bastante semelhantes, não sendo possível concluir se houve interferência significativa nesse intervalo, porém indicando uma tendência a gerar erros maiores em concentrações acima do intervalo estudado (maior do que $20 \mu\text{g L}^{-1}$) pelo uso da curva não adequada. Já para Se, as curvas de adição de analito não apresentaram diferenças significativas, mas sim em relação à curva de calibração externa, que mostrou não ser adequada para a determinação desse elemento nessas amostras. Assim, optou-se por não trabalhar com a curva externa.

Embora as curvas de adição preparadas com a amostra de biodiesel e com a amostra de óleo cru não revelaram diferenças maiores do que 20% no intervalo estudado, não é possível prever, até esse momento, se ambas podem ser empregadas satisfatoriamente na análise de todas as amostras, principalmente para Sb, que apresentou as maiores diferenças entre as curvas.

Com a finalidade de simplificar o método, optou-se por utilizar a curva de calibração preparada com adição de analito em biodiesel, que é a matriz mais simples, para as próximas etapas do trabalho.

5.5.2 Limites de Detecção (LOD) e Quantificação (LOQ) – comparativo entre os métodos propostos

Empregando as condições otimizadas para cada modo de introdução de amostra, isto é, introdução direta das amostras diluídas em xileno, introdução direta das amostras decompostas e introdução por geração de hidreto (com emprego de HCl e tiouréia como pré-redutores), foram comparados os limites de detecção (LOD) instrumentais de cada método e os limites de quantificação (LOQ) dos analitos nas amostras, considerando os fatores de diluição para as amostras de óleo cru. Com exceção das amostras analisadas diretamente com diluição em xileno, as amostras de biodiesel não foram submetidas ao mesmo fator de diluição das amostras de óleo cru. Sendo assim, os devidos LOQ para as amostras de biodiesel submetidas à decomposição ácida podem ser determinados multiplicando os valores dos LOQ para as amostras de óleo cru por 0,9. Os resultados de LOD e LOQ estão mostrados na Tabela 20.

Tabela 20: Limites de detecção instrumentais e limites de quantificação de As, Sb e Se nas amostras de óleo cru e biodiesel para introdução direta.

Método	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)			LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	As	Sb	Se	As	Sb	Se
Soluções em xileno	9,0	14	23	297	462	759
Soluções aquosas	12	11	20	282	259	471
GV – HCl como pré-redutor	0,2	0,2	0,3	4,7	4,7	7,1
GV – Tiouréia como pré-redutor	0,4	0,8	0,6	9,4	19	14

Os limites de detecção encontrados mostraram que a análise por introdução direta das amostras, tanto diluídas em xileno, quanto decompostas em meio ácido e analisadas contra soluções aquosas, não tem sensibilidade adequada para a determinação de As, Sb e Se em amostras de biodiesel e óleo cru. Portanto, a geração de vapor mostrou ser a única alternativa eficiente, nesse caso, para essas determinações por ICP OES, pois os limites de detecção obtidos foram suficientemente baixos para essa aplicação.

Na Tabela 21, os resultados de LODs para As, Sb e Se encontrados neste presente trabalho quando se emprega a geração de vapor hifenada ao ICP OES são comparados com valores encontrados em diversos trabalhos de outros grupos de pesquisa que analisaram os mesmos elementos.

Tabela 21: Comparação entre os limites de detecção instrumentais para As, Sb e Se empregando-se HCl e tiouréia em análises multielementares.

Ref.	Técnica	Tipo de amostra	Pré-redutor	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
				As	Sb	Se
Neste trabalho	HG-ICP OES	Biodiesel e óleo cru	Tiouréia	0,4	0,8	0,6
Matusiewicz e Ślachciński ¹⁴⁵	MIP-OES	Sedimentos	Tiouréia	1,2	1,8	3,3
Neste trabalho	HG-ICP OES	Biodiesel e óleo cru	HCl	0,2	0,2	0,3
Dos Santos <i>et al.</i> ⁹	HG-ICP OES	Material particulado	HCl	0,5	0,2	0,1
Tyburska <i>et al.</i> ¹⁰⁶	HG-ICP OES	Água	HCl	1,5	1,3	0,5

5.5.3 Precisão

A precisão é um termo que avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas em uma mesma amostra. Usualmente, é expressa como o desvio-padrão relativo (RSD) ou coeficiente de variação (CV). O RSD é dado pela Equação 7. A precisão pode ser considerada no nível de repetitividade, de precisão intermediária e de reprodutividade. A repetitividade expressa a precisão nas mesmas condições de operação (equipamento, analista, reagentes, dia e mesmas condições ambientais) em pequeno espaço de tempo. A precisão intermediária expressa as variações no mesmo laboratório, envolvendo diferentes dias, diferentes analistas e diferentes equipamentos, entre outros. A reprodutividade expressa a precisão entre laboratórios, mediante estudos colaborativos usualmente aplicados para padronização de metodologias.

$$\text{RSD} = \frac{s}{M} \times 100$$

Eq. 7

Sendo:

s → desvio padrão das leituras

M → média das leituras

Sendo assim, o estudo realizado para determinar a precisão do método proposto neste trabalho foi baseado na repetitividade. Segundo documento de caráter orientativo do INMETRO¹⁴⁴, recomenda-se sete ou mais repetições de cada medida para o cálculo do RSD. Como no presente trabalho não estava disponível um grande volume de amostras, optou-se por avaliar a precisão do método através de três medidas em duplicatas para as análises por HG-ICP OES. Nas Tabelas 22, 23, 24 e 25 encontram-se os valores de RSD para as amostras de óleo e biodiesel analisadas.

5.5.4 Exatidão

A exatidão é definida como a concordância entre o valor real do analito na amostra e o estimado pelo método empregado. Os processos normalmente utilizados para avaliar a tendência de um método são, entre outros: uso de materiais de referência certificados (MRC), participação em comparações

interlaboratoriais e realização de ensaios de recuperação. Sempre que possível, os MRCs devem ser utilizados no processo de validação de um método de ensaio. Um MRC possui um valor de concentração, ou outra grandeza, para cada parâmetro, e uma incerteza associada. Entretanto, nem sempre é possível utilizar este tipo de material, por ser caro ou simplesmente não conter a certificação do elemento de interesse. Sendo assim, pode-se empregar a recuperação do analito, que pode ser estimada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas do mesmo (*spike*).¹⁴⁴

O erro sistemático percentual, ou erro relativo (ER), pode expressar a exatidão do método, este erro pode ocorrer pela perda de substâncias devidas à baixa recuperação da extração, medidas volumétricas imprecisas ou substâncias interferentes na amostra, etc. O cálculo do ER está representado na Equação 8.

$$ER(\%) = \frac{X_{\text{lab}} - X_v}{X_v} \cdot 100$$

Eq. 8

Sendo:

X_{lab} → valor obtido experimentalmente ou média aritmética de valores obtidos

X_v → valor aceito como verdadeiro (valor certificado do MRC ou valor fortificado)

5.5.4.1

Análise de Materiais de Referência Certificados (MRC) e Recuperações dos analitos adicionados

Para avaliar a aplicação do método analítico de determinação de As, Sb e Se em amostras de óleo cru e biodiesel, por VG-ICP OES, foram analisados os materiais de referência de óleo combustível residual (NIST 1634c) e dois materiais de referência de biodiesel (NIST 2772 e NIST 2773). Como não há certificação de Sb na amostra de óleo combustível residual e dos três analitos nas duas amostras de biodiesel, essas amostras foram enriquecidas com quantidades apropriadas dos padrões inorgânicos monoelementares. As concentrações determinadas e as recuperações obtidas em relação aos valores certificados ou em relação às quantidades fortificadas estão apresentadas nas Tabelas 22 e 23.

Tabela 22: Resultados obtidos na análise do MRC de óleo combustível residual NIST 1634c.

	Pré-redução com HCl			Pré-redução com Tiouréia		
	As	Sb	Se	As	Sb	Se
Valor certificado ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	142,6 \pm 6,4	301,3*	102 \pm 3,8	142,6 \pm 6,4	100*	102 \pm 3,8
Valor encontrado ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	129,9 \pm 20,0	304,8 \pm 39,4	95,6 \pm 20,1	81,6 \pm 4,4	103,7 \pm 5,3	29,4 \pm 4,4
RSD (%)	5,1	4,2	6,9	0,5	0,3	1,1
Recuperação (%)	90	99	94	57	104	29

*Adição de padrão inorgânico de Sb na amostra

Como se pode observar na Tabela 22, todos os elementos apresentaram uma concordância com os valores certificados ou adicionados, quando o HCl foi empregado como pré-redutor, com recuperações entre 90% e 99%, indicando a boa exatidão do método proposto. Já os resultados obtidos na análise do material certificado NIST 1634c com a tiouréia como pré-redutor, revelaram que seu uso não se mostrou eficiente para as determinações de As e Se, pois os valores encontrados não foram concordantes com os certificados, cujas recuperações foram de 57% e 29%. A tiouréia mostrou ser um pré-redutor bastante eficiente quando se deseja determinar Sb por geração de vapor, entretanto, em uma análise multielementar em que se tenha, além do Sb, As e Se, tal procedimento não se mostra adequado, mesmo gerando boa sensibilidade para As e Se. Uma justificativa para a incompatibilidade do emprego da tiouréia em determinações que contenham As e Se seria a ação distinta da tiouréia em diferentes formas químicas dos analitos. Ou seja, se após o processo de digestão da amostra, o analito apresenta-se em diferentes formas químicas ou em diferentes estados de oxidação, o pré-redutor pode não ser totalmente eficiente. Essa afirmação não é conclusiva e merece uma investigação mais aprofundada.

Tabela 23: Resultados obtidos na análise de biodiesel de óleo de soja NIST 2772 e biodiesel de gordura animal NIST 2773.

	NIST 2772			NIST 2773		
	As	Sb	Se	As	Sb	Se
Valor adicionado*						
($\mu\text{g kg}^{-1}$)	10	20	10	10	20	10
Valor encontrado						
($\mu\text{g kg}^{-1}$)	11,2	16,1	11,4	11,4	14,4	10,9
RSD (%)	3,40	14,1	2,82	4,04	22,6	3,03
Recuperação (%)	112	80	114	114	72	109

*Os valores expressos referem-se às adições nas soluções de leitura.

No caso das amostras certificadas de biodiesel, os resultados de recuperação das quantidades adicionadas dos três analitos no NIST 2772 se mostraram satisfatórios, pois apresentaram valores entre 80-114%. Entretanto, para a amostra NIST 2773, a recuperação para Sb não foi tão eficiente (72%),

diferente dos analitos As e Se, cujas recuperações foram 109 e 114%, respectivamente.

Estes resultados revelam que em quantidades menores de Sb o emprego do HCl não se mostra tão eficiente para a quantificação deste analito. Entretanto, em um trabalho em que se deseja apenas verificar a presença de Sb em uma determinada amostra, o método utilizado neste trabalho para a determinação multielementar de As, Sb e Se poderá ser empregado sem nenhum problema.

Estes materiais certificados de biodiesel não foram analisados utilizando a tiouréia como pré-redutor, visto que os resultados gerados na para o NIST 1634c não foram satisfatórios para uma análise multielementar de As, Sb e Se, quando este pré-redutor foi empregado.

5.6 Análise das amostras

Sabe-se que os elementos de interesse neste trabalho, As, Sb e Se, são elementos potencialmente tóxicos à saúde humana. Além desta problemática, poucos trabalhos são publicados em se tratando da determinação desses elementos em matrizes de biodiesel e óleo cru. Sendo assim, As, Sb e Se foram determinados em 13 amostras de óleo cru e 6 amostras de biodiesel.

As amostras, depois de decompostas, foram submetidas ao tratamento de pré-redução com HCl, utilizando o ácido em 8 mol L^{-1} com aquecimento de $100 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos. Os analitos foram quantificados sob as condições otimizadas para esse pré-redutor, pois o mesmo mostrou resultados mais satisfatórios na análise dos materiais certificados para As, Sb e Se. Os resultados de concentração determinados nas amostras de óleo cru estão apresentados na Tabela 24 e os resultados de concentração e recuperação, para amostras de biodiesel, se encontram na Tabela 25.

Os resultados obtidos com as análises dos óleos cru mostraram que as concentrações para Sb ficaram todas abaixo do LOQ ($0,7 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$). O mesmo ocorreu para os três analitos quando se analisaram as amostras de biodiesel.

Assim como as análises dos MRC, as amostras de biodiesel mostraram boas recuperações para os 3 analitos adicionados, entre 103% e 113% para As e Se e não tão boas para Sb, cujas recuperações foram em torno de 83% a 111%, comprovando que o método proposto não é o mais eficiente para as

quantificações de Sb, embora permita verificar as concentrações aproximadas deste elemento em uma análise multielementar.

Tabela 24: Concentrações de As, Sb e Se determinadas em amostras de óleo cru, empregando o método proposto.

Óleo	As		Sb			Se	
	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RSD	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RSD	Recuperação (%)	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RSD
A	63,4 \pm 0,1	0,06	< LOQ	-	-	32,3 \pm 2,6	2,69
B	60,4 \pm 8,5	4,63	< LOQ	-	-	32,8 \pm 3,6	3,58
C	105,6 \pm 7,3	2,27	< LOQ	-	-	51,7 \pm 3,6	2,32
D	91,1 \pm 3,9	1,40	< LOQ	-	-	66,9 \pm 13,9	6,84
E	59,4 \pm 5,1	2,84	< LOQ	-	-	31,0 \pm 0,7	0,70
F	86,4 \pm 1,6	0,62	< LOQ	-	-	59,2 \pm 5,5	3,03
G	106,1 \pm 9,1	2,83	< LOQ	-	-	35,5 \pm 5,2	4,81
H	110,8 \pm 5,0	1,47	< LOQ	-	-	38,1 \pm 3,0	2,62
I	3,1 \pm 0,3	2,70	258,5 \pm 23,8*	3,02	86	15,7 \pm 1,8	3,74
3	47,3 \pm 3,2	2,25	< LOQ	-	-	23,6 \pm 5,9	8,14
7	29,1 \pm 0,1	0,07	< LOQ	-	-	15,0 \pm 3,4	7,51
11	101,1 \pm 20,0	6,50	241,9 \pm 29,9*	4,06	83	51,7 \pm 15,9	10,1
12	80,0 \pm 6,7	2,74	272,0 \pm 27,8*	3,35	92	62,1 \pm 3,0	1,59

* Adição de aproximadamente 333 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de padrão inorgânico de Sb

Tabela 25: Concentrações e recuperações de As, Sb e Se determinadas em biodiesel, com adição de $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ para As e Se e $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ para Sb, na solução de leitura, empregando o método proposto.

	As			Sb			Se		
	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RSD (%)	Recuperação (%)	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RSD (%)	Recuperação (%)	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RSD (%)	Recuperação (%)
Biodiesel									
Pequi	$11,0 \pm 1,3$	3,78	110	$17,2 \pm 1,1$	2,16	86	$10,8 \pm 1,6$	4,90	108
Canola	$11,3 \pm 0,2$	0,54	113	$18,5 \pm 0,7$	1,22	92	$11,3 \pm 0,1$	0,23	113
Mamona	$11,1 \pm 0,2$	0,62	111	$16,6 \pm 1,0$	2,02	83	$11,3 \pm 0,8$	2,46	113
Algodão	$10,6 \pm 2,0$	6,21	106	$18,1 \pm 0,9$	1,60	91	$10,3 \pm 1,3$	4,13	103
Palma	$10,6 \pm 1,4$	4,37	106	$22,2 \pm 0,6$	0,81	111	$11,6 \pm 0,8$	2,35	116
Soja	$11,0 \pm 1,0$	3,03	110	$16,6 \pm 0,8$	1,62	83	$10,6 \pm 0,9$	2,90	106

Com os resultados obtidos para as concentrações de As e Se em óleo cru, calcularam-se as razões entre estes elementos. Estas razões se encontram na Tabela 26.

Tabela 26: Razão entre as concentrações de As e Se em amostras de óleo cru.

Óleo	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		Razão (As/Se)
	As	Se	
A	63,4	32,3	1,96
B	60,4	32,8	1,84
C	105,6	51,7	2,04
D	91,1	66,9	1,36
E	59,4	31,0	1,92
F	86,4	59,2	1,46
G	106,1	35,5	2,99
H	110,8	38,1	2,91
I	3,1	15,7	0,20
3	47,3	23,6	2,00
7	29,1	15,0	1,94
11	101,1	51,7	1,96
12	80,0	62,1	1,29

As razões entre As e Se podem ser indicativos para uma possível classificação para óleos cru ou mesmo revelar possíveis fontes de poluição. Entretanto, somente esses dados não são conclusivos, haveria a necessidade de se investigar outros parâmetros, assim como analisar um número maior de amostras.