

4 Resultados e discussão: Estudos preliminares

4.1 Interferências associadas às técnicas baseadas no uso do ICP

A forma convencional de introdução da amostra no plasma é através de nebulização pneumática de solução. Nesse procedimento, a amostra é impulsionada por uma bomba peristáltica e entra em um nebulizador pneumático onde é nebulizada em uma fina névoa que é aspirada para a tocha por uma vazão de argônio. Nesse tipo de sistema, a maior parte da solução das amostras, ou seja, mais de 98 % da solução aspirada, acaba sendo rejeitada e drenada para o descarte. Na tocha, a amostra atinge o plasma e na seqüência é dessolvatada, vaporizada, atomizada e ionizada. Elementos que têm potencial de ionização menor do que o do argônio (16 eV), gás de sustentação do plasma, e que por isso está em excesso, são eficientemente ionizados. Naturalmente, os íons formados podem se recombinar entre si ou com outros íons que estão em excesso no plasma (provenientes da atmosfera e do próprio argônio), e com isso gerando interferências, que serão descritas a seguir. Qualquer substância presente na amostra e que cause um erro sistemático na medida do sinal analítico é chamada interferente. As interferências em técnicas baseadas no ICP são classificadas em espectrais e não espectrais¹⁷³.

4.1.1 Interferências espectrais

Esse tipo de interferência ocorre quando há uma sobreposição espectral, em alguma extensão, de qualquer espécie atômica ou iônica com o analito.

4.1.1.1 Escolhas de linhas analíticas e de razões m/z

Ao escolher as linhas analíticas de emissão, deve-se levar em consideração não apenas o seu tipo (ressonantes ou não-ressonantes), a sua sensibilidade relativa e seus respectivos potenciais de ionização, mas também as possíveis interferências espectrais provenientes de linhas de emissão de outros elementos nas linhas dos elementos de interesse, assim como, emissões de espécies moleculares que possam existir nas proximidades de uma determinada linha analítica.

Uma vez escolhidas as linhas dos analitos (todas ressonantes) de acordo com a sua sensibilidade, realizou-se um estudo preliminar de interferências espectrais entre os elementos de interesse e também de outros potenciais elementos presentes nas matrizes de trabalho, visando avaliar a adequação das linhas analíticas. Este estudo foi realizado com soluções aquosas e emulsões preparadas com óleo base e fortificadas com os analitos e interferentes na forma inorgânica.

Inicialmente, o sinal analítico de soluções contendo cada um dos analitos de interesse (soluções de referência) foi medido e comparado com o sinal obtido de soluções contendo o respectivo analito, na mesma concentração da solução de referência (1 mg L^{-1}), na presença de outros elementos (Ag, Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Pb, Sr, Tl e Zn) cujas concentrações foram variadas de 10, 100 e 1000 mg L^{-1} . Não foram verificadas diferenças entre os sinais das soluções de referência dos analitos e as soluções contendo os interferentes. Também foi avaliada a possibilidade de interferência do sinal de um analito sobre os demais analitos de interesse. Para isso, mediu-se o sinal de emissão de um dos analitos e comparou-se com o sinal de uma solução contendo a mesma concentração do analito, porém contendo os demais em concentrações 10, 100 e 1000 vezes maiores³.

Observou-se que não existe interferência mútua entre os elementos de interesse nas linhas escolhidas, mesmo em concentrações até 1000 vezes maiores. Verificou-se também, que o Sc (ICP OES) não interfere no sinal dos analitos, podendo então, ser usado como padrão interno³.

Com esses resultados, assegurou-se que as linhas analíticas escolhidas são apropriadas para o trabalho (Tabela 3).

Tabela 3 - Linhas selecionadas para os elementos a serem determinados por ICP OES- Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Ti, V e Zn

ELEMENTO	LINHA ANALÍTICA (nm)	ALTURA DE OBSERVAÇÃO (mm)
Al (I)	396,1	15
Cd (I)	228,8	17
Co (II)	228,6	20
Cr (II)	267,7	20
Cu (I)	327,3	15
Fe (II)	238,2	18
Mg (II)	280,2	15
Mn (II)	257,6	15
Mo (II)	202,0	18
Ni (II)	231,6	20
Ti (II)	337,3	19
V (II)	292,4	18
Zn (I)	213,8	20

Qualquer partícula iônica que apresente razão m/z próxima à do analito e que não possa ser separada desta é caracterizada como uma interferência em ICP-MS. Esse tipo de interferência pode ser devido a: (i) sobreposição isobárica, quando outro elemento possui um isótopo de mesma massa nominal que o analito e que não podem ser separados pelo analisador de massas, no caso o quadrupolo; (ii) íons poliatômicos, que são íons formados pela combinação de espécies presentes no plasma possuindo razão m/z que se sobrepõe ao analito. São comuns os íons formados com Ar, que é o

principal componente do plasma, H, O, Cl, P, S, que são elementos comuns de solventes e matrizes de amostras, e mesmo da água e da atmosfera. Consequentemente, os principais problemas relacionados com esse tipo de interferência ocorrem na faixa de razão m/z menor do que 80¹⁴⁹; (iii) íons de óxidos refratários, que podem ser formados pela incompleta dissociação da matriz ou por recombinação no plasma; (iv) íons de carga dupla, que ocorrem quando a razão m/z de determinado elemento (sendo $z = 2$), coincide com a razão m/z do analito. A formação de íons de carga dupla no plasma é reduzida, já que somente elementos com segundo potencial de ionização inferior ao primeiro potencial de ionização do Ar poderão ser duplamente ionizados em uma extensão significativa.

As interferências isobáricas já são bem conhecidas e informadas pelo software dos espectrômetros de massa, podendo ser contornadas pela escolha de um isótopo alternativo, com o uso de equações de correção, ou ainda por formas alternativas de introdução de amostra, enquanto que as interferências devidas a óxidos e íons de dupla carga são normalmente controladas pela otimização das condições operacionais, como potência de radiofrequência do plasma e vazão do gás nebulizador, que definem a temperatura e a posição de amostragem no plasma.¹⁵³

Interferências não-espectrais ocorrem quando o sinal do analito é afetado por substâncias concomitantes na amostra, sem a ocorrência de sobreposição espectral. Neste caso, a interferência pode ocorrer em qualquer etapa do processo, desde a introdução da amostra até a chegada dos analitos no detector. São geralmente divididas em: (i) efeitos físicos, ocasionados pela presença de sólidos dissolvidos ou totais na solução da amostra, que podem formar depósitos sobre componentes do instrumento, prejudicando a focalização dos íons para o quadrupolo. Quanto menor a concentração dos analitos mais crítica é esse tipo de interferência. Quando se utiliza a nebulização pneumática, recomenda-se que a quantidade de sólidos dissolvidos seja mantida no máximo 0,2 % na solução da amostra, ou que se utilize uma forma alternativa de introdução de amostra; (ii) efeitos de transporte, ocasionados pelas diferentes propriedades físicas das soluções de calibração e das soluções da amostra; (iii) interferências multiplicativas provenientes de elementos facilmente ionizáveis em concentração relativamente alta na solução da amostra podem causar supressão do sinal do analito, devido a uma possível redução na ionização do mesmo. Elementos de alta razão m/z podem repelir elementos mais leves, desviando sua trajetória no quadrupolo

e suprimindo seu sinal, sendo que a tal efeito é dado o nome de efeito espaço-carga. Menos comum, alguns elementos presentes em excesso na matriz da amostra podem causar aumento no sinal de determinados analitos¹⁷⁴; (iv) Efeito do carbono que causa o aumento de sensibilidade de analitos de altos potenciais de ionização produzidos pela presença de carbono, quando empregada nebulização pneumática^{7,175}. Este aumento na sensibilidade pode gerar uma interferência na análise de amostras contendo matéria orgânica, usando-se soluções de calibração aquosas.

Considerando as interferências espectrais e não-espectrais tradicionalmente esperadas para os analitos a serem determinados por ICP-MS, escolheu-se a detecção dos isótopos de razão m/z para os analitos de interesse como indicado na Tabela 4.

Tabela 4. Razão m/z dos elementos determinados por ICP-MS.

ELEMENTO	m/z	ABUNDÂNCIA (%)
Cd	114	28,86
Co	59	100
Cr	53	9,55
Cu	65	30,91
Fe	57	2,19
Mn	55	100
Ni	58	67,84
Pb	208	52,3
Rh	103	100
V	51	99,76
Zn	66	27,81

A fim de minimizar interferências não-espectrais, pode-se fazer uma diluição da amostra, o que nem sempre é satisfatório, uma vez que resulta, obviamente, em diluição também do analito. Uma forma alternativa e mais elegante é a utilização de um

padrão interno. No entanto, nem sempre esse procedimento corrige algumas das interferências. Também se pode fazer uma simulação da matriz (matrix matching) da amostra, ou seja, adiciona-se ao branco e soluções de calibração quantidades semelhantes dos componentes majoritários da amostra, mas essa alternativa é inconveniente, podendo introduzir contaminantes e requerendo conhecimento profundo da composição da matriz de interesse, o que torna esse artifício de difícil implementação para as amostras mais complexas. A aplicação de técnicas de calibração apropriadas também pode corrigir interferências, como as calibrações por adição do analito ou por diluição isotópica (no caso da técnica ICP-MS), que são bastante eficientes. No caso da adição do analito, o procedimento torna a análise mais trabalhosa e demorada, sendo que apenas aquelas interferências que diminuem o sinal do analito em relação ao sinal dos padrões podem ser corrigidas. Isto é, o procedimento de calibração pode compensar as interferências não-espectrais, mas não as espectrais. A calibração por diluição isotópica, consiste em alterar a razão isotópica do analito na amostra e determinar sua concentração através da medição da razão isotópica alterada. Isto é feito adicionando-se à amostra uma determinada quantidade de um material que contém um isótopo enriquecido do elemento a ser determinado. As abundâncias isotópicas do analito na amostra sem adição do material fortificado são conhecidas e chamadas abundâncias naturais. Também são conhecidas as abundâncias isotópicas do analito no material fortificado. As interferências espectrais não podem ser compensadas por essa calibração, que é o caso de sobreposição isobárica ou por óxidos ou íons poliatômicos afetando em diferentes extensões os isótopos de interesse. Por outro lado, alguns aspectos associados à introdução das amostras permitem a remoção da matriz da amostra antes da introdução dos analitos no plasma, eliminando alguns tipos de interferências¹⁷⁶. A seguir serão discutidos mais detalhes sobre os artifícios utilizados nesse trabalho para se minimizar as interferências não-espectrais procedentes das matrizes das amostras em análise.

4.2 Minimização de interferências não-espectrais

4.2.1 Padronização interna

A padronização interna corrige flutuações do sinal decorrentes de variações na viscosidade, densidade e tensão superficial, os quais afetam diretamente o transporte da amostra, melhorando a repetitividade e exatidão. A exatidão é afetada quando ocorre uma diferença entre a matriz da amostra e a matriz do padrão de calibração que afeta diferentemente o sinal do analito, além de ser provocada por desvios de comportamento do sistema analítico em função do tempo. O padrão interno é uma espécie química (no caso desse trabalho, um sal aquoso de elemento químico) incorporado a cada amostra e padrão a uma concentração fixa e conhecida. Assim, o procedimento envolve o cálculo da razão do sinal do analito pelo sinal do elemento escolhido como padrão interno. Normalmente, ocorre proporcionalidade direta entre as razões e as concentrações dos analitos e essa razão deve ser idêntica para uma amostra e um padrão contendo o analito na mesma concentração.

Alguns critérios devem ser observados para a seleção do elemento a ser utilizado como padrão interno. Suas propriedades físicas e químicas devem ser as mais similares possíveis daquelas dos elementos de interesse. No caso do ICP OES, a linha de emissão do padrão interno deve apresentar energia de excitação e de ionização próxima(s) ao(s) do(s) analito(s), para que as duas linhas sejam afetadas similarmente pelas flutuações de temperatura e tenham a mesma distribuição da razão átomo/íon no plasma¹⁸⁰. Finalmente, o padrão interno não deve provocar interferências espectrais na linha analítica do(s) analito(s) e, devendo para tal, preferencialmente, apresentar poucas linhas de emissão na faixa de 200 a 300 nm onde se localizam as linhas iônicas mais proeminentes características da espectroscopia com fonte ICP¹⁷⁷. O elemento escândio foi avaliado em dois estudos sobre aplicabilidade de padrões internos com ICP¹⁷⁸⁻¹⁷⁹. Este apresenta a maioria dessas características desejadas para o padrão interno principalmente no caso dos elementos refratários. Desta forma, Sc foi selecionado para as análises por ICP OES. O padrão interno deve apresentar alta pureza e pelo menos um isótopo disponível para medição com abundância significativa e relativamente livre de interferências na maioria das matrizes das amostras. De preferência, estes isótopos devem localizar-se no meio do espectro de massa, permitindo assim, a sua utilização

tanto para elementos com baixa ou alta razão massa-carga (m/z) atômica, e não devem interagir com a matriz ou com o(s) analito(s) na amostra. Em ICP-MS, o elemento utilizado como padrão interno mais apropriado é aquele que se encontra localizado mais proximamente do espectro de massa do analito. Quando a análise multielementar cobre uma larga faixa de massa, podem ser usados vários elementos como padrão interno, simultaneamente, para alcançar valores ótimos. Para resultados ótimos, os analitos em determinação que utilizam valores de baixa razão m/z , requerem um padrão interno com baixo valor de m/z . Similarmente, os analitos sendo medidos com valores intermediários ou altos de m/z , requerem padrão interno localizado nesta mesma faixa de massa. O Rh foi selecionado para as análises por ICP-MS.

4.2.2

Introdução de oxigênio no gás carreador e no gás auxiliar

Se o aerossol produzido de uma solução orgânica é introduzido no plasma, formam-se algumas moléculas estáveis, por exemplo, C_2 , CN e grafite C(s). Grafite comporta-se como um corpo negro e irradia em toda faixa espectral do UV-visível, provocando um aumento do fundo contínuo. Em algumas faixas espectrais estreitas, o fundo também é fortemente aumentado por emissão de moléculas que se comportam como quase-contínuo, se a diferença de comprimento de onda entre os componentes rotacionais é menor do que a largura da banda do instrumento. A maior intensidade de fundo resulta em um aumento nos LD, reduzindo assim, a faixa linear de trabalho¹⁸⁴. Interferências espectrais também podem ser observadas nas regiões características das linhas moleculares dessas espécies (ICP OES). No caso do ICP-MS, o aumento da presença de carbono oriundo de matrizes orgânicas no ICP resulta na formação de espécies moleculares de carbeto, as quais podem produzir interferências isobáricas com alguns analitos. A alta concentração de carbono no plasma, também pode aumentar a probabilidade de sua deposição nas paredes da tocha do plasma e na superfície do cone amostrador. Passando o aerossol rico em orgânicos através de uma câmara de nebulização refrigerada por água, a pressão de vapor do solvente é diminuída, reduzindo a quantidade de carbono alcançando o plasma. Este artifício, acoplado ao

aumento da potência de RF aplicada, usada para gerar o ICP, ajuda na estabilização do plasma.

Uma solução química simples para evitar os problemas relativos ao carbono e suas espécies provenientes da matéria orgânica da amostra é a combustão dessas no ICP por meio da introdução de gás oxigênio como gás auxiliar. A eficiência da oxidação do CN e C₂ a CO ou CO₂ pode ser constatada pelo decréscimo na intensidade das bandas características. A adição de oxigênio tem sido utilizada com frequência tanto em ICP OES quanto em ICP-MS, quando amostras com alta carga orgânica são analisadas. A presença de oxigênio misturado ao argônio auxiliar e/ou carreador resulta, no caso de amostras orgânicas, em um plasma estável alcançando aparência e características operacionais bem próximas às do plasma operando com solução aquosa¹⁸⁰. Contudo, em ICP-MS, este processo resulta no aumento considerável de espécies moleculares de óxido no espectro, especialmente compostos de carbono-oxigênio. Em geral, as interferências poliatômicas mais sérias resultam dos isótopos mais abundantes dos elementos Ar, C, Cl, H, N, O e S.

Em ICP OES, a introdução do oxigênio foi feita na linha do argônio carreador e do argônio auxiliar, para a análise das microemulsões de óleos e gorduras comestíveis e de óleo cru em n-propanol, para as emulsões de óleo diesel e combustível em n-propanol, e com a utilização da metodologia da diluição direta com solventes orgânicos para todas as matrizes estudadas. A utilização de um injetor de menor diâmetro (1,0 mm) possibilitou a manutenção do plasma estável por 8 h, mas sem formação de depósito de carbono na saída do injetor, porém no caso da introdução direta de solventes orgânicos, observou-se uma pequena formação de depósito de carbono na saída do injetor, mesmo com a otimização da vazão de oxigênio. Isto se deve à maior carga orgânica chegando ao plasma nesse caso.

A otimização das vazões de oxigênio auxiliar e de oxigênio carreador, foi feita para as emulsões contendo óleo base (para simular as amostras orgânicas usadas no trabalho), utilizando o nebulizador acoplado à câmara de nebulização ciclônica. Para isto, fixou-se inicialmente, a vazão de oxigênio via gás carreador em 0,0018 L min⁻¹ (menor divisão da escala do rotâmetro) variando a vazão via gás auxiliar entre 0 e 0,07 L min⁻¹. Utilizou-se um rotâmetro com divisões de 10 a 65 que correspondiam a vazões de 1,8 a 80 mL min⁻¹ (Figura 3). Para facilitar as citações, nos referiremos sempre às

divisões do rotâmetro durante a otimização, convertendo para vazão, quando da conclusão da otimização.

O oxigênio tanto na linha do gás auxiliar quanto na linha do carreador melhorou as características espectrais do ICP, reduzindo o sinal de fundo com redução da banda de estrutura molecular (emissão molecular de C_2 e CN incluindo o “bullet” visível de C_2). Um dos efeitos desta redução de emissão de C_2 é o aumento na temperatura de excitação a uma dada potência, conforme foi observado quando da realização das análises. Esses dois fatores favorecem a obtenção de melhores sensibilidades para análises desses tipos de amostras. Um outro efeito benéfico foi a eliminação da formação de depósitos de carbono em partes da tocha do plasma⁷¹. A Figura 4 mostra o esquema montado para a introdução de oxigênio junto ao argônio auxiliar.

No caso do procedimento de introdução direta de amostra diluída em querosene e xileno (no caso do diesel), as condições de plasma estável e a prevenção e/ou minimização de depósito de carbono na saída do injetor, puderam ser alcançadas apenas com o suprimento de oxigênio via gás carreador ($0,0018 \text{ L min}^{-1}$) e auxiliar ($0,047 \text{ L min}^{-1}$). A razão oxigênio: argônio de nebulização nesse caso foi de 0,0036 e a razão oxigênio: argônio auxiliar foi de 0,047, igual ao estabelecido para as emulsões.

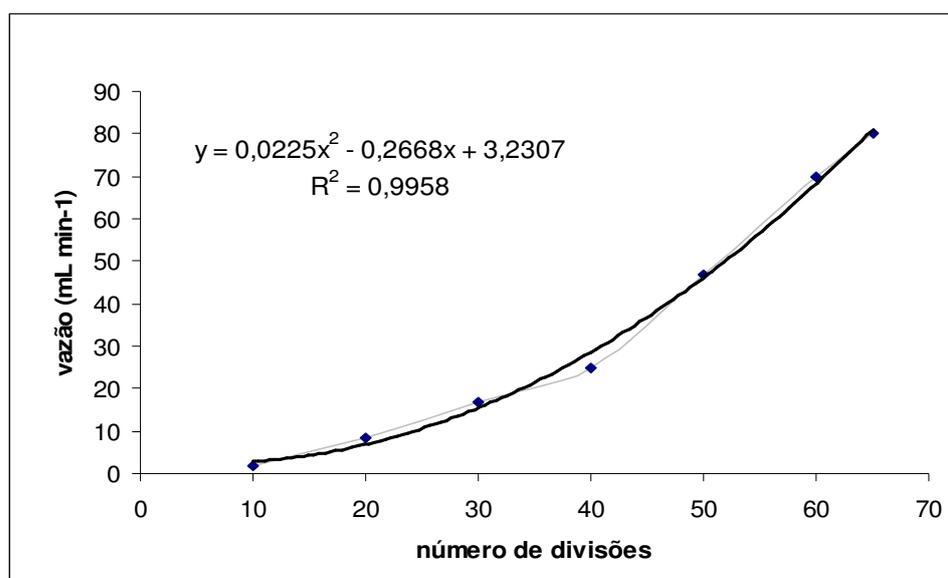


Figura 3 – Calibração das vazões de oxigênio no rotâmetro

Introdução de O₂



Figura 4. Esquema de montagem para introdução de oxigênio na vazão de argônio auxiliar

4.2.3 Acidificação de amostras

Nas emulsões, as gotículas de óleo contendo os analitos de interesse estão homogeneamente dispersas na fase aquosa se comportando muito similarmente às soluções aquosas. Este fato, associado à acidificação do meio emulsificado, viabiliza os procedimentos de calibração que utilizam curvas de calibração feitas com padrões analíticos inorgânicos. A acidificação é usada para converter espécies organometálicas do analito ou particulados metálicos em espécies iônicas em solução, uniformizando as

espécies de analito presentes na amostra. Com o uso de emulsões acidificadas, correlações diretas podem ser feitas entre os sinais dos analitos na amostra e os sinais dos analitos dos padrões inorgânicos aquosos. Essa conversão também aumenta a estabilidade da amostra em termos de estocagem, diminuindo as chances de adsorção das espécies organometálicas do analito nas paredes do recipiente ou da precipitação do analito^{10,78,81,105,123,145,152}. No caso das extrações, o meio ácido também facilita a decomposição parcial das amostras e a liberação das espécies químicas de interesse em solução. Além de garantir a completa extração das espécies de interesse para a solução, a acidificação de emulsões e de microemulsões e o uso de extratos ácidos facilitam o procedimento de calibração, minimizando a possibilidade da hidrólise e precipitação de várias espécies de analito e permitindo o uso de padrões inorgânicos. Nos capítulos mais adiante, serão mostrados estudos relacionados com a avaliação do efeito da acidificação das amostras nas emulsões e microemulsões de amostras de óleos e gorduras. A comparação entre recuperação de analitos nos meios acidificados e não acidificados será feita dando indícios às afirmações feitas acima relacionando as possíveis causas da obtenção dos melhores resultados no meio previamente acidificado.

4.3 Estudo das condições de cavitação do banho ultra-sônico

De acordo com Nascentes e colaboradores¹²⁹, a caracterização dos banhos de ultra-som é de fundamental importância quando da utilização destes aparatos para indução / aceleração de reações químicas, extrações, etc. Isso se deve à necessidade da identificação dos pontos de cavitação dos banhos, pois são próximos destes que os processos de extração assistida por ultra-som das espécies de interesse ocorrem.

Visando identificar o ponto de maior cavitação do banho ultra-sônico e avaliar se a variação da posição dos tubos no banho de ultra-som afeta os resultados relativos à extração dos metais das matrizes de óleo, realizou-se um teste de erosão de papel alumínio. Esse teste foi realizado forrando-se toda a superfície da cuba do banho ultra-sônico com papel alumínio antes de preencher a cuba com 1 L de água e proceder a aplicação do ultra-som durante 20 min, tempo que corresponde ao meio da faixa de

tempo utilizada nos estudos de extração. Os resultados obtidos estão mostrados na Figuras 5 e 6.



Figura 5 – Banho ultra-sônico utilizado neste trabalho

O teste identificou que o único transdutor do banho, que se localiza no centro do aparato, permite que toda a superfície do fundo do banho seja corroída já com 10 min de processo. Após 15 min de processo, a folha de alumínio no fundo do banho é totalmente corroída. É interessante notar, no entanto, que o processo de erosão se iniciou no centro do banho se alastrando rapidamente para as laterais. Teste de recuperação de analitos, feito no Capítulo 6 permitirão afirmar se esse processo aparentemente não uniforme em função do tempo afetará estatisticamente os resultados obtidos nas amostras, indicando se a posição dos tubos no banho é crucial no planejamento dos experimentos.



2 min de US



4 min de US



4 min de US



6 min de US



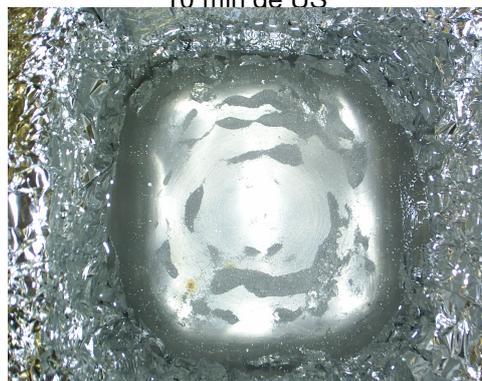
8 min de US



10 min de US



12 min de US



15 min de US

Figura 6. Resultados do teste de erosão do alumínio pela cavitação do banho de ultra-som em função do tempo.