

5 Materiais e métodos

5.1. Reagentes e soluções

Todas as soluções utilizadas neste trabalho foram preparadas com o uso de H₂O destilada e posteriormente deionizada em um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA) até uma resistividade de 18,2 MΩcm. Os sais utilizados, selenito de sódio (Na₂SeO₃; Sigma Aldrich, 99, 999 %), selenato de sódio (Na₂SeO₄; Sigma Aldrich, 99, 999 %) e selenocianato de potássio (KSeCN; Sigma Aldrich, > 99 %), são de grau analítico. Soluções estoque de 1000 µg L⁻¹, preservadas em HNO₃, exceto para KSeCN, foram preparadas e conservadas sob refrigeração.

O material de referência certificado, óleo combustível residual, NIST 1634c (National Institute of Standards and Technologies, MD, USA), com valor certificados para selênio foi utilizado na HG-ICP-MS, para a verificação da exatidão e precisão do método.

5.2. Amostragem e preservação das amostras

As amostras de correntes internas e efluentes da E.T.D.I. foram coletadas, acondicionadas e enviadas pelos funcionários da refinaria para o laboratório da PUC-Rio, após visita previa dos pesquisadores da PUC-Rio, envolvidos no projeto, à refinaria em estudo e definição dos pontos de amostragem. O acondicionamento e preservação foram feitos de duas maneiras diferentes, sendo uma, em frascos de polietileno de 500 mL, conservadas em caixa isopor com gelo, e a outra, em tubos de polietileno de 50 mL, usando-se alíquota de 0,5 mL de HNO₃ como preservante e posterior adição de 49,5 mL de amostra filtrada (0,45 µm, Millipore) e mantidas sob refrigeração (-4 °C) no próprio laboratório da PUC-Rio. Amostras de óleo cru (petróleo), de cerca de 500 mL de cada, foram recebidas em recipientes de vidro, e sem identificação dos seus locais de origem. Segundo

solicitações previamente feitas, eles representavam, na época de amostragem, os mais freqüentemente processados na refinaria.

5.3. Instrumentação e metodologias analíticas utilizadas

5.3.1. HG-ICP-MS

O sistema HG-ICP-MS utilizado é composto pelo sistema FIAS 200 e do amostrador automático AS 90 acoplados ao ICP-MS (Elan 6000), todas da firma Perkin Elmer-Sciex (Norwalk, CT, USA). Foram utilizados NaBH_4 (Vetec, 95 %), no preparo de soluções do agente redutor (0,4 % m/v), e HNO_3 (Merck, bi-subdestilado) para o preparo do carreador (3 % v/v).



Figura 3 – Fotografia mostrando o sistema de HG-ICPMS utilizada neste trabalho.

A Tabela 6 resume os parâmetros relevantes do programa do sistema FIAS 200, enquanto que os parâmetros operacionais utilizados para o ICP-MS estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 6- Programa operacional do FIAS 200 utilizado para a determinação de selênio.

Etapa	Tempo (s)	Bomba 1 HNO₃	Bomba 2 NaBH₄	Posição da válvula rotatória
Pré-amostragem	10	120	50	1
1	120	120	0	1
2	60	0	120	2
3	1	50	0	

A pré-redução reduz o estado de oxidação do analito antes da geração de vapor e se faz necessária por duas razões: (1) a sensibilidade é aumentada pelo aumento da eficiência da formação de hidretos com o analito em seu estado de oxidação mais baixo, e (2), para garantir que os estados de oxidação entre as amostras e os padrões utilizados sejam iguais, assegurando a acuracidade das análises (Jiang, 2006). Além disso, nas condições utilizadas neste trabalho, o Se (VI) não forma hidretos voláteis e não pode ser detectado pela técnica de geração de hidretos, devendo ser totalmente convertido a Se (IV), pelo simples aquecimento da amostra acidificada com HCl 4 mol L⁻¹ por 60 minutos a 80 °C para a determinação de Se-total [Se (IV) + Se (VI)]. Por outro lado, sem essa etapa de redução, somente o Se (IV) pode ser determinado, possibilitando, dessa forma, uma análise de especiação do Se inorgânico presente nas amostras. Para a determinação de selênio total nas amostras utiliza-se a oxidação prévia das mesmas. A uma alíquota de dois mililitros de amostra, adicionam-se 3 mL de HNO₃ concentrado. As amostras são aquecidas a 80 °C até que o volume final seja de 0,5 mL. Após resfriamento, são adicionados 4,5 mL de H₂O e 5 mL de HCl concentrado e segue-se conforme metodologia de pré-redução descrita no item anterior. Nem sempre, este processo de oxidação foi eficiente, especialmente em amostras contendo selênio na forma mais refratária.

Outra alternativa, utilizada apenas no final deste trabalho e que se mostrou mais vantajosa, consiste no emprego de *água régia*. O procedimento comparativo para mineralização da amostra foi realizada tomando 2 mL de amostra, adicionados 2 mL de água régia e aquecimento durante 1 hora a 70 °C. Após esta etapa seguiu-se com o procedimento de redução.

5.3.2. IC-ICP-MS

O sistema cromatográfico utilizado é composto por uma bomba HPLC, série 200 (Perkin Elmer-Sciex, Norwalk, CT, USA), equipada com válvula injetora manual (Rheodyne, 9010, USA) com alça de amostragem de 500 μL (PEEK), pré-coluna (Metrosep RP Guard) e uma coluna de troca aniônica (Metrosep A Supp 1, Metrohm, Suíça). Esta última foi interligada, através de um tubo em PEEK de cerca de 50 cm de comprimento, ao sistema de introdução de amostra do ICPMS, composto por um nebulizador pneumático tipo Meinhard e uma câmara ciclônica (Glass Expansion, Austrália).

O eluente para a separação cromatográfica foi preparado com ácido cianúrico 3 mmol L^{-1} (Sigma Aldrich, 98 %), perclorato de potássio 2,5 mmol L^{-1} (Química Moura Brasil), acetonitrila 2 % (Merck, 99,99 %,), e NaOH (Merck) para ajuste do pH em 10. O eluente sempre foi confeccionado no dia da análise.



Figura 4 – Fotografia mostrando o sistema cromatográfico acoplado ao ICP-MS do Depto. de Química da PUC-Rio.

A Tabela 7 resume parâmetros operacionais do sistema cromatográfico, enquanto que os parâmetros operacionais utilizados para o ICP-MS estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 7- Parâmetros operacionais do sistema cromatográfico utilizados na separação de Se (IV), Se (VI) e SeCN⁻.

Sistema cromatográfico	
Pré-coluna	Metrosep RP Guard
Coluna	Metrosep A Supp1 (l = 4,6 cm; Ø = 250 cm)
Vazão da bomba	1,00 mL min ⁻¹
Pressão máxima utilizada	1.890 psi
Volume da amostra	500 µL
Tempo morto	200 segundos

A análise de especiação foi realizada conforme metodologia aplicada em amostras de efluentes hídricos de refinaria de petróleo, e descrita por Pereira (2004) e Pereira *et al.* (2005). Como já mencionado, foi utilizado uma coluna de separação aniônica, Metrosep A Supp1 (Metrohm, Suíça), cujo material de empacotamento é um copolímero de poliestireno-divinilbenzeno, com partículas em torno de 7 µm de diâmetro, o qual tolera eluentes fortemente alcalinos e com alto conteúdo de modificadores orgânicos.

Vários eluentes, descritos na literatura para a separação de espécies de selênio, foram testados (p.ex. carbonato/bicarbonato, tampão de ftalato, ácido p-hidroxibenzóico) e permitiram uma boa separação entre selenito (Se IV) e selenato (Se VI). No entanto, todos estes testes resultaram em tempos de retenção muito longos e, conseqüentemente, alargamento do pico do íon selenocianato (SeCN⁻). Utilizando, como fase móvel uma solução de ácido cianúrico, modificada com acetonitrila e perclorato de potássio, este efeito indesejado foi superado.

O elemento índio ($m/z = 115$) foi escolhido como padrão interno no intuito de monitorar a estabilidade das medições ao longo da corrida cromatográfica. Para tanto, um arranjo em “T” foi adotado para que a solução contendo o padrão interno pudesse ser adicionada ao eluente, no ponto da saída da coluna.

5.3.3. ICP-DRC-MS

Na fase final deste trabalho foi utilizado um ICP-MS com cela de reação, mod. ELAN DRC II (Perkin Elmer-Sciex, Norwalk, CT, USA), operado em ambiente

limpo através de uma capela de fluxo laminar, modelo Clear Station, série – FL 11908 (Veco do Brasil), vide Figura 5. O sistema para introdução de amostra no plasma foi o sistema padrão fornecido pelo fabricante do ICPMS e composto de nebulizador tipo Meinhard com câmara ciclônica. Os gases utilizados no ICP-DRC-MS foram O_2 (99,99 %, grau 4,0 analítico) e CH_4 (99,995 %, grau 4,5), ambos da White Martins (Brasil), e condições operacionais típicas para determinação de selênio estão descritas na Tabela 8.

As amostras foram diluídas somente em água, na ordem de 10 a 100 vezes, dependendo da concentração de selênio e da matriz delas. Ródio (^{103}Rh) foi utilizado como padrão interno durante as análises, na concentração de $20 \mu g L^{-1}$, para monitorar o processo de nebulização e a estabilidade do plasma.



Figura 5– Fotografia do ELAN DRC-II, hospedado em câmara de fluxo laminar, do laboratório de ICPMS da PUC-RIO e adquirido em julho de 2007.

Tabela 8- Condições otimizadas para os gases de reação O₂ e CH₄ para determinação de selênio e, parâmetros operacionais do ICP-MS ELAN DRC II.

Parâmetros	O ₂	CH ₄
Potência da radiofrequência (W)	1200	1200
amostrador e <i>skimmer</i>	Pt	Pt
Modo de varredura	<i>peak Hopping</i>	<i>peak Hopping</i>
Resolução	0,7 u	0,7 u
Varreduras por leitura	3	3
Leituras por replicatas	1	1
Replicatas	3	3
<i>Dwell time</i> (ms)	70	70
Tempo morto (ns)	65	65
Operação do detector	<i>dual mode</i>	<i>dual mode</i>
<u>Vazões dos gases</u>		
plasma (L min ⁻¹)	15	15
auxiliar (L min ⁻¹)	1,25	1,4
Carreador (L min ⁻¹)	0,93	0,93
Gás O ₂ (mL min ⁻¹)	1	-
Gás CH ₄ (mL min ⁻¹)	-	0,35
RP _a	0	0
RP _q	0,25	0,15

5.3.4. Análise semiquantitativa por ICP-MS

Para uma análise rápida de amostras desconhecidas, o ELAN[®] fornece um único e totalmente automatizado método semiquantitativo, denominado TotalQuant[™]. Esta técnica permite determinar a concentração de até 81 elementos na amostra em uma única medição através da varredura de todo o espectro de massa por ICP-MS. Desse modo, não é necessário especificar os elementos individuais que se deseja analisar. O *software* corrige automaticamente interferências isobáricas e, em parte também interferências poliatômicas, produzindo um relatório abrangente de cada elemento presente na amostra, juntamente com a sua concentração.

O TotalQuant[™] (TQ) pode ser aplicado sem padrões, para realizar uma rápida determinação qualitativa, proporcionando um meio simples de identificar os

componentes de uma solução desconhecida. Após essa caracterização, opta-se por utilizar soluções analíticas e procedimentos de calibração para se obter informações semiquantitativas (TQ) ou quantitativas, dependendo das necessidades em questão.

Ao contrário de métodos de análise quantitativa em que padrões são utilizados na calibração de cada elemento de interesse, a calibração no TotalQuant™ é alcançada utilizando-se apenas alguns poucos elementos, distribuídos estrategicamente em toda a faixa de massa de interesse. As intensidades medidas nesta calibração simplificada são utilizadas para reajustar os fatores de resposta (cps por µg/L) em toda faixa de massa (6 a 238) para compensar alterações diárias na sensibilidade do instrumento.

A técnica de TotalQuant™ foi utilizada neste trabalho para a caracterização semiquantitativa das amostras, objetivando informações sobre interferentes espectrais e não espectrais, mas também, sobre outros elementos tóxicos potencialmente presentes nas correntes internas da refinaria e nos efluentes.

Em geral, as amostras foram diluídas na ordem de 10 a 100 vezes com água. A calibração do equipamento foi feita a partir de uma solução contendo 20 µg L⁻¹ de cada elemento presente. Os padrões utilizados na confecção dessa solução multielementar de calibração foram: *Multielement ICPMS Calibration Standard 2 e 5* (Perkin Elmer), *ICP-Multielement Standard solution 4* (Merck) e uma solução mista (P5), preparada a partir de soluções monoelementares, contendo os seguintes elementos: Fe, Ca, K, Mg e Na. Esta é estocada numa concentração de 10 mg L⁻¹, e pipetados 200 µL para a elaboração da solução de calibração. Em conjunto, a solução final de calibração continha 64 elementos. Este grande número de elementos utilizados na calibração, em princípio não exigido, resultou num melhor reajuste da curva de resposta, reduzindo assim a incerteza no resultado analítico final (tipicamente de 10 a 20 %). Ródio (¹⁰³Rh) foi utilizado como padrão interno (PI) durante as análises para monitorar o processo de nebulização e a estabilidade do plasma, e a solução do PI foi introduzido, em linha, através de uma peça “T” em um canal livre da bomba peristáltica.

5.3.5. ETV-ICP-MS

As medidas foram realizadas em um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado, modelo ELAN 6000, equipado com um vaporizador

eletrotérmico, modelo HGA 600 MS, e amostrador automático, modelo AS 60, todos da Perkin Elmer-Sciex (Norwalk, CT, USA). O interfaceamento entre o vaporizador eletrotérmico com o ICPMS foi efetuado usando um tubo de PTFE de 100 cm de comprimento e 0,6 cm de diâmetro interno. Tubos de grafite eletrolíticos recobertos piroliticamente (nº B009-1504) e ponteiros de grafite pirolítico (nº B050-8371), também da Perkin Elmer foram utilizados. O programa de temperaturas otimizado para o vaporizador eletrotérmico está apresentado na Tabela 9, e os parâmetros operacionais utilizados para o ICPMS encontram-se na Tabela 10.

As amostras mais concentradas foram diluídas cerca de vinte vezes com água purificada através do sistema Milli-Q, as demais foram analisadas sem diluição. Ródio foi utilizado como padrão interno e paládio (Pd) como modificador/carreador (10 e 2,5 µg foram inseridos dentro do tubo de grafite, respectivamente).

Tabela 9 - Programas de temperaturas do vaporizador eletrotérmico otimizado, para a determinação de selênio.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Vazão do gás (mL min⁻¹)
Limpeza	2500	1	10	300
Resfriamento ^a	20	1	10	300
Secagem	90	10	10	300
Secagem	130	20	10	300
Pirólise	300	15	15	300
Resfriamento	20	1	10	300
Vaporização ^b	2500	0	8	300
Resfriamento	20	1	10	300

^a Etapa de injeção, ^b Etapa de leitura.

Tabela 10 - Parâmetros operacionais do ICPMS ELAN 6000 para diferentes acoplamentos.

Parâmetros	HG-ICPMS	IC-ICPMS	ETV-ICPMS
Potência RF (W)	1200	1200	1300
amostrador e <i>skimmer</i>	Pt	Pt	Pt
Modo de varredura	<i>peak hopping</i>	<i>peak hopping</i>	<i>peak hopping</i>
Medida do sinal	área do pico	área do pico	área do pico
Resolução	0,7 u	0,7 u	0,7 u
Varreduras por leitura	1	1	1
Leituras por replicatas	32	2900	60
Replicatas	3	1	3
<i>Dwell time</i> (ms)	80	50	30
Tempo morto (ns)	55	55	55
Operação do detector	<i>dual mode</i>	<i>dual mode</i>	<i>dual mode</i>
<u>Vazões dos gases</u> (L min ⁻¹)			
plasma	15,0	15,0	15,0
auxiliar	1,20	1,20	1,20
carreador	1,150	1,200	1,000

5.3.6. ICP OES

Para a determinação de selênio por ICP OES foi utilizado o espectrômetro de emissão, modelo Optima 4300 DV (Perkin Elmer-Sciex, Norwalk, CT, USA), com sistema de introdução composto por nebulizador pneumático concêntrico (modelo Conikal) e câmara ciclônica de nebulização, ambos da Glass Expansion (Austrália). As medições foram realizadas na linha mais sensível do selênio, Se(II): 196 026 nm, e na configuração axial do plasma, com potência da radiofrequência de 1500 W, vazão do gás carreador de 0,600 L min⁻¹ e taxa de aspiração da amostra de 1,50 mL min⁻¹. Como *shear gas* foi utilizado ar comprimido. A calibração do instrumento foi feita com solução monoelementar de selenito de sódio (Na₂SeO₃), tipicamente na faixa de 0 a 1.000 µg L⁻¹.

As amostras foram diluídas somente em água, na ordem de 10 a 100 vezes, dependendo da concentração de selênio e das características das mesmas (p.ex. altas concentrações de Na que causariam supressão de ionização).

5.3.7.

Digestão de amostras assistida por microondas

Para digestão de amostra em vaso fechado, assistida por microondas, foi utilizado o instrumento MLS 1200 mega da Milestone (Itália), com sistema de exaustão EM-30. O programa de potência do forno de microondas e o tempo utilizado em cada etapa estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11- Programas 1 e 2 utilizados no forno digestor por microondas na mineralização das amostras provenientes de refinaria de petróleo e do material de referência certificado (NIST 1634c).

Etapa	Tempo (min)	Potencia (W)	Ventilação (min)
<i>Programa (1)</i>			
1	10	300	0
2	5	420	0
3	20	0	2
<i>Programa (2)</i>			
1	10	300	0
2	5	600	0
3	20	0	20

A decomposição de petróleo em meio ácido assistida por microondas em sistema fechado é eficiente, relativamente rápida, e minimiza a perda de elementos voláteis, como no caso do Se. Os sistemas comercializados usam freqüentemente bombas de teflon (PTFE), que minimizam a adsorção dos elementos nas paredes e suportam uma pressão interna de até 300 psi pelo uso de uma camisa protetora para suportar altas pressões. Os estágios de potência (t, W) podem ser programados e a medição da temperatura e pressão interna das bombas permite aperfeiçoar as condições para que se tenha uma oxidação mais eficiente.

Os métodos de decomposição de óleo bruto no digestor de microondas geralmente propostos pelos fabricantes de digestores de microondas ainda apresentam uma série de desvantagens, principalmente, quando o objetivo do trabalho é a determinação de elementos em baixas concentrações. As limitações estariam ligadas a altas quantidades de ácido, igual ou acima de 10 mL (EPA método 3031); ácidos, como clorídrico e sulfúrico, usados em alguns métodos

criam interferências poliatômicas que impossibilitam a determinação de vários elementos em baixas concentrações por ICP-MS (p.ex., Cr, V, As); a decomposição de óleo bruto somente com ácido resulta numa matriz viscosa e com alto teor de carbono orgânico, proveniente da oxidação apenas parcial de compostos de alta massa molecular.

Seguindo sugestões de Fonseca (2000) e Duyck (2001), o método de decomposição de petróleo usando ácido nítrico concentrado em pequeno volume (2,0 mL) e peróxido de hidrogênio (3,0 mL) como agente oxidante foi utilizado neste trabalho. As soluções finais ficaram mais límpidas e claras, devido ao uso do peróxido de hidrogênio, que adicionou uma etapa eficaz de oxidação a mais para a destruição da matéria orgânica.

A metodologia proposta apresenta as seguintes vantagens: utiliza pouca quantidade de amostra, consome menos reagente e o risco de contaminação é mínimo. Para a digestão das amostras utilizou-se um digestor de microondas equipado com carrossel com seis bombas de teflon e suportes protetores para pressões de até 110 bar, acoplado ao módulo de exaustão.

A primeira etapa consiste na descontaminação das bombas de teflon, a qual é realizada pela adição de 2,0 mL de ácido nítrico concentrado. A seguir as bombas são acondicionadas no carrossel e levadas ao digestor de microondas e submetida ao programa dois (Tabela 11), posteriormente os frascos são lavados e secos para serem utilizados na mineralização das amostras de petróleo. Desta forma, uma alíquota de aproximadamente 0,2 g de óleo é então pesada e sobre esta adicionada um mililitro de diclorometano (DCM). Uma leve agitação é necessária para a completa dissolução do óleo sendo, com o auxílio de uma pipeta, transferida para as bombas de teflon. As bombas são colocadas em uma chapa de aquecimento, durante aproximadamente 30 min, sob atmosfera de Ar, para a evaporação do DCM. Em seguida são adicionados 2,0 mL de ácido nítrico concentrado ao óleo que é então levado ao digestor de microondas e submetido ao programa 1 (Tabela 11). Esta etapa se repete alterando-se o volume de ácido para 0,5 mL e submete-se novamente ao programa 2. Após estas duas etapas, a solução resultante deve-se apresentar clara. Caso isto não seja observado, repete-se a última etapa descrita. Estando as soluções claras, adiciona-se uma alíquota de 1,5 mL de H_2O_2 sobre esta solução, e leva-se novamente ao digestor por microondas (programa 2). Esta etapa deve-se repetir pelo menos uma vez.

Após esta seqüência utilizada para a digestão das amostras de óleo, as soluções resultantes da mineralização são recolhidas e transferidas para tubos de 50 mL, avolumando-se a 30 mL com água deionizada.