

4 Materiais e métodos

4.1 Equipamentos

As análises foram realizadas em um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado modelo 4300 DV Perkin Elmer (Figura 4).



Figura 4: Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado – ICP OES 4300 DV (Perkin-Elmer), LABSPECTRO / PUC-Rio.

4.1.1 Introdução direta

A introdução de soluções preparadas em xileno foi feita diretamente através de um nebulizador Meinhard tipo K. Por sua vez, a introdução direta das soluções aquosas foi realizada com um nebulizador concêntrico, modelo Conikal

(ambos da Glass Expansion, USA). As condições instrumentais que foram fixadas para as determinações por introdução direta encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5: Condições instrumentais fixadas do ICP OES para as medidas por introdução direta por nebulização pneumática das soluções em xileno e das soluções aquosas e por geração de vapor.

	Diluição em xileno	Solução aquosa	Geração de vapor
Potência RF, W	*	*	1500
Vazão do Ar principal, L min ⁻¹	15	15	15
Vazão do Ar auxiliar, L min ⁻¹	1	0,2	0,2
Diâmetro do injetor, mm	1,8	2,0	1,8
Tempo de integração, s	5-10	5-10	5-10
Aquisição de dados		área	
Modo de leitura do sinal		Vista axial	
Linhas analíticas, nm:			
	As(I)	188,979	
	Sb(I)	206,836	
	Se(I)	196,026	

* Condições apresentadas nas Tabelas 6 e 7, as quais foram otimizadas nos estudos multivariados.

4.1.2 Geração de vapor

Para a geração de vapor, foi acoplado ao espectrômetro um sistema de fluxo contínuo para geração *on line* dos hidretos voláteis, constituído por um *manifold* e um separador gás-líquido, como mostra a Figura 5. Uma bomba peristáltica (Miniplus 3, Gilson, Japão) foi utilizada para a introdução do NaBH₄, visto que sua vazão otimizada era diferente da vazão da amostra, que foi introduzida pela bomba peristáltica do equipamento de ICP OES. A Tabela 5 mostra as condições operacionais do equipamento que foram fixadas nas otimizações multivariadas e nas análises das amostras pelo método proposto.

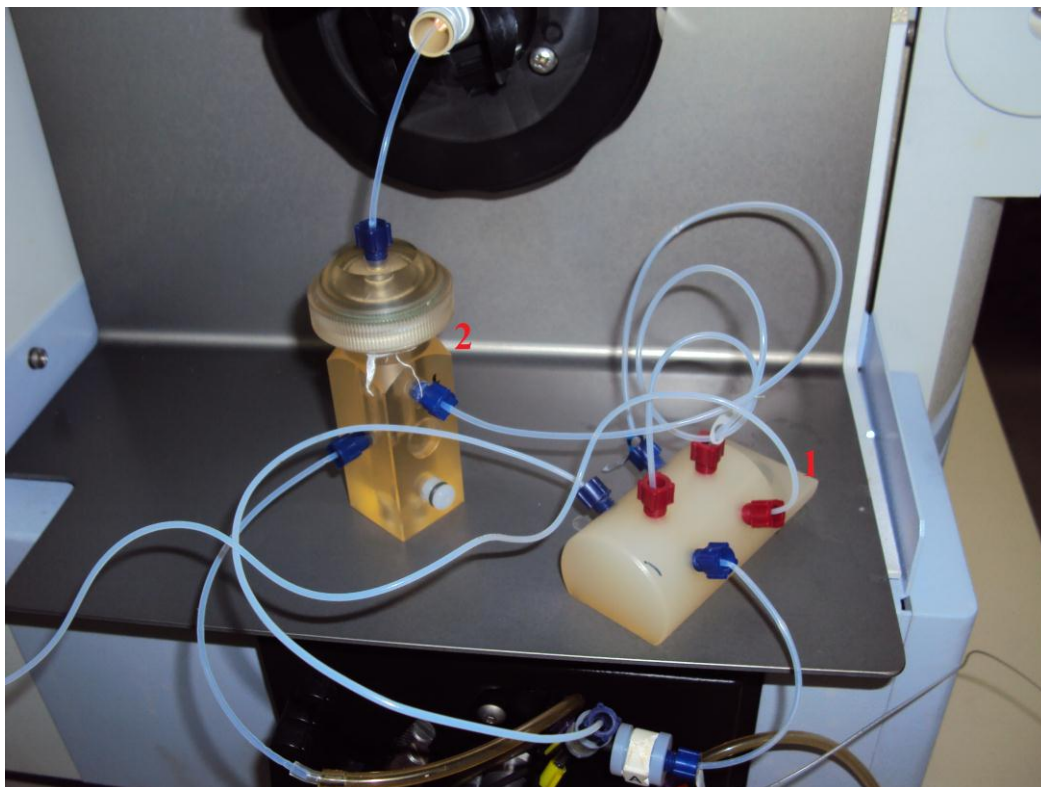


Figura 5: Sistema de geração de vapor empregado: 1. *Manifold*, 2. Separador gás-líquido.

As amostras foram pesadas utilizando uma micro-balança (Ay220, Shimadzu, Japão) e decompostas em um bloco digestor (DAH-904, Berghof, Alemanha) (Figura 6), utilizando frascos DAB-3 (teflon com capacidade de 250 mL). Para o preparo da solução de tiouréia, utilizou-se um banho de ultrassom da Thornton T 50 (USA). No processo de evaporação do excesso de HNO_3 , utilizou-se uma chapa de aquecimento da Fisatom (Brasil) com temperatura na faixa de 100 ± 10 °C. Os planejamentos experimentais foram realizados com o programa Statistica 7.0.



Figura 6: Bloco digestor utilizado na abertura das amostras.

4.2 Reagentes, soluções e amostras

Argônio 99,996% de pureza (White Martins, Brasil) foi utilizado para a formação do plasma e como gás de arraste.

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e para o preparo de todas as soluções foi empregada água deionizada (resistividade de 18,2 MΩ cm) em um sistema MilliQ (Millipore, USA).

As soluções padrão orgânicas de As ($(C_6H_5)_3As$), Sb ($(CH_3)_3SbCl_2$) e Se (C_6H_5SeCl), cujas purezas são de 97%, 96% e 98%, respectivamente, foram preparadas a partir de padrões monoelementares (Aldrich, Alemanha) diluídos em xileno (VETEC Química Fina, Brasil).

As soluções padrão inorgânicas de As, Se e Sb foram preparadas a partir de padrões monoelementares ($100 \mu g mL^{-1}$) da VHG (USA) em 5% de HNO_3 para As e Se ou em 20% de HCl para Sb.

A solução padrão de Ni de $100 mg L^{-1}$, utilizada nos estudo de interferência, foi preparada a partir de padrão monoelementar $1000 mg L^{-1}$ da (Titrisol-Merck, USA) diluído em água.

Os ácidos HNO_3 e HCl utilizados (ambos da VETEC, Química Fina, Brasil) foram bidestilados abaixo do ponto de ebulição. Para a pré-redução, foram usados KI (Merck, USA), ácido ascórbico (Vetec, Química Fina, Brasil) e solução de tiouréia (RP, Itália, 99% de pureza) com concentração final de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. A solução redutora de NaBH_4 (VETEC Química Fina, Brasil, 98% de pureza) com concentração de 1% m/v foi estabilizada adicionando-se duas pastilhas de KOH (Merck), para um volume final de 250 mL. Fez-se o uso de dimeticona (75 mg mL^{-1}) como anti-espumante (Medley, Brasil).

Os materiais de referência utilizados para a validação do método foram o NIST 1634c (*National Institute of Standards and Technology - Trace elements in residual fuel oil*), NIST 2772 (*B100 Biodiesel Soy - based*) e NIST 2773 (*B100 Biodiesel Animal - based*) do *National Institute of Standards and Technology* (todos NIST, USA).

As amostras de óleo e biodiesel foram fornecidas pela Petrobras.

4.3

Otimizações das condições operacionais

Foram realizados estudos a fim de verificar as condições ótimas ou de compromisso para a determinação simultânea dos analitos As, Sb e Se. Sendo assim realizaram-se otimizações multivariadas para cada sistema estudado. Foi utilizado o *software* Statística 7.0 para construção dos gráficos de pareto e de superfície de resposta, para determinar a região de ótimo desempenho em relação a um nível de confiança de 95%. O critério de resposta adotado foi o SBR.

4.3.1

Otimização das condições para a determinação por introdução direta das amostras diluídas em xileno

Uma otimização multivariada foi realizada utilizando um planejamento fatorial 2^3 com 11 experimentos, em duplicata, sendo 1 ponto central em triplicata. As variáveis avaliadas foram a potência da RF e vazões do Ar de nebulização e da aspiração da amostra. Os parâmetros vazão de Ar principal e vazão do gás auxiliar foram mantidos fixos e encontram-se na Tabela 5. As soluções utilizadas nestas otimizações foram preparadas a partir dos padrões

orgânicos de As, Sb e Se, através de diluição em xileno, com uma concentração de 10 mg kg^{-1} , sendo o branco apenas xileno. Os experimentos foram realizados analisando a solução multielementar e branco. As melhores condições observadas com este estudo se encontram na Tabela 6.

Tabela 6: Condições operacionais otimizadas para o sistema de introdução direta por diluição em xileno.

Parâmetros operacionais	Valores
Potência RF, W	1500
Vazão de nebulização, L min^{-1}	0,45
Vazão de aspiração da amostra, mL min^{-1}	0,70

4.3.2

Otimização da determinação por introdução direta das soluções das amostras após decomposição ácida.

Assim como para a introdução direta das amostras diluídas em xileno, na determinação direta das amostras após decomposição ácida, fez-se o uso de uma otimização multivariada empregando-se um planejamento fatorial 2^3 com 11 experimentos, em duplicata, sendo 1 ponto central em triplicata. Foram variados os mesmos parâmetros instrumentais: potência da RF, vazões do Ar de nebulização e vazões da aspiração da amostra. As soluções utilizadas nestas otimizações foram preparadas a partir de padrões inorgânicos de As, Sb e Se em 65% de HNO_3 , cuja concentração foi de 10 mg kg^{-1} , sendo o branco HNO_3 65%. A solução padrão multielementar e o branco foram analisados nos experimentos propostos. As melhores condições observadas com este estudo se encontram na Tabela 7.

Tabela 7: Condições operacionais otimizadas para o sistema de introdução direta das amostras após decomposição ácida.

Parâmetros operacionais	Valores
Potência RF, W	1500
Vazão de nebulização, L min^{-1}	0,45
Vazão de aspiração da amostra, mL min^{-1}	2,00

4.3.3

Otimização da determinação por geração de vapor

4.3.3.1

Testes de pré redução dos analitos

Foram realizados estudos univariados para verificar o comportamento dos elementos As, Sb e Se na geração de hidretos acoplada à técnica de ICP OES e identificar a possibilidade de um único procedimento capaz de pré-reduzir e permitir a determinação simultânea dos analitos. Para tanto, foram avaliados os valores das razões sinal branco (SBR) calculados para os sinais gerados para As, Sb e Se, quando as seguintes condições de pré-redução foram empregadas: HCl, tiouréia e ácido ascórbico com KI.

Os testes para escolha e otimização das condições de pré-redução foram feitos com soluções aquosas contendo As, Se e Sb na concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ cada, empregando solução 1% de NaBH_4 , vazão de NaBH_4 e de amostra em 1 mL min^{-1} e vazão do gás de arraste em $0,5 \text{ L min}^{-1}$. As condições de pré-redução, como a concentração dos reagentes (HCl, tiouréia e ácido ascórbico com KI), foram variadas dependendo do estudo proposto.

4.3.3.2

Estudo univariado

Foram feitos testes univariados com alguns dos parâmetros instrumentais para a geração de vapor. Escolheram alguns parâmetros a serem mantidos fixos, como HCl 4 mol L^{-1} e NaBH_4 1%, além dos parâmetros instrumentais contidos na Tabela 5. Neste estudo, primeiramente foi variada a vazão de NaBH_4 . Após selecionada a melhor condição para este parâmetro, fixou-a e variou-se a vazão da amostra. Por último, selecionando também a melhor condição para a vazão de amostra, variou-se a vazão do gás de arraste.

4.3.3.3 Otimização multivariada

Os parâmetros instrumentais e de geração de hidretos foram otimizados através de planejamentos experimentais multivariados. Para este estudo, fixou-se, além dos parâmetros já mantidos constantes para todos os procedimentos em que se fez o uso da geração de vapor (Tabela 5), a concentração de NaBH_4 em 1%.

4.3.3.3.1 Otimização multivariada para o emprego do HCl na pré-redução

Para a otimização multivariada das melhores condições a serem empregadas na geração de vapor para a determinação de As, Sb e Se, com o uso de HCl como pré-redutor, foi realizado planejamento fatorial 2^4 com 19 experimentos, em duplicata, sendo 1 ponto central em triplicata. Nesse estudo avaliaram-se os efeitos causados pela variação dos parâmetros vazão de NaBH_4 , vazão de amostra, vazão de gás de arraste e concentração de HCl. A melhor condição para uma análise multielementar de As, Sb e Se está expressa na Tabela 8.

Tabela 8: Condições operacionais do sistema de geração de vapor para o emprego do HCl como pré-redutor.

Parâmetros operacionais para VG	Valores
Vazão do NaBH_4 , mL min^{-1}	1,5
Vazão da amostra, mL min^{-1}	3,0
Vazão do gás de arraste, L min^{-1}	0,8
Concentração do NaBH_4 , % (m/v)	1
Concentração do HCl, mol L^{-1}	8

4.3.3.3.2 Otimização multivariada para o emprego da tiouréia na pré-redução

Em se tratando da otimização das melhores condições quando se emprega a tiouréia na etapa de pré-redução para a geração de vapor, para determinar de

As, Sb e Se, foi empregado um planejamento fatorial 2^3 com 11 experimentos, em duplicata, sendo 1 ponto central em triplicata. Nesse caso, estudaram-se os efeitos causados pela variação dos parâmetros: vazão de NaBH_4 , vazão de amostra e vazão de gás de arraste.

A condição encontrada para uma melhor sensibilidade para os três analitos utilizando esse tipo de pré-redução se encontra na Tabela 9, da mesma maneira que os valores de concentração de HCl e concentração de tiouréia que foram mantidos constantes nesta otimização, pois foram fixados através de estudos prévios (Anexo 1).

Tabela 9: Condições operacionais do sistema de geração de vapor para o emprego da tiouréia como pré-redutor.

Parâmetros operacionais para VG	Valores
Vazão do NaBH_4 , mL min^{-1}	1,5
Vazão da amostra, mL min^{-1}	2,0
Vazão do gás de arraste, L min^{-1}	0,5
Concentração do NaBH_4 , % (m/v)	1
Concentração do HCl , mol L^{-1}	6
Concentração da tiouréia, mol L^{-1}	0,02

4.4

Estudos de possíveis interferentes

Estudos sobre possíveis interferentes foram realizados a fim de verificar a existência de concomitantes nas amostras que poderiam prejudicar a determinação dos elementos de interesse.

Como Ni é um elemento que é facilmente reduzido pelo NaBH_4 , este compete com o analito para a formação do hidreto, resultando em uma redução do sinal do elemento de interesse. Este interferente mostrou ser significativo na determinação de As, Sb e Se. Como as matrizes de óleo cru apresentam quantidades significativas de Ni (basicamente em torno de 50 mg kg^{-1})^{133,134}, foi avaliada a relação existente entre As, Sb e Se em possíveis matrizes que contenham o Ni nas condições que seriam utilizadas nas análises das amostras de interesse, considerando que a presença de Ni seria de aproximadamente 800

vezes maior que as do analitos, considerando a concentração dos analitos próximas a $60 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Para isso, foram medidas as respostas em SBR de uma solução contendo Ni e comparados com outra solução preparada apenas com As, Sb e Se. A concentração dos analitos foi fixada em $20 \mu\text{g L}^{-1}$ em meio de HCl 8 mol L^{-1} e foi adicionado Ni em concentração 800 vezes superior à concentração dos analitos.

4.5

Preparação das amostras

Para a aplicação analítica do método proposto neste trabalho, foram analisadas 13 amostras de óleo cru e 6 amostras de biodiesel. Além de 1 amostra de material certificado de óleo residual (NIST 1634c) e 2 amostras de material certificado para biodiesel (NIST 2772 e 2773).

4.5.1

Diluição das amostras em solvente orgânico

Inicialmente, foi testada a viabilidade da determinação de As, Sb e Se em amostras de óleo cru e biodiesel diluídas em xileno por introdução direta em ICP OES. As amostras de óleo cru e amostras de biodiesel foram preparadas por diluição em xileno de aproximadamente 1,0 g da amostra, com precisão de 0,1 mg, para massa final de 10 g.

4.5.2

Decomposição das amostras em bloco digestor

Aproximadamente 0,7 g das amostras de óleo e 0,8 g das amostras de biodiesel foram pesados, com precisão de 0,1 mg, diretamente nos frascos de Teflon do bloco digestor. Em seguida, foram adicionados 12 mL e 10 mL de HNO_3 para as amostras de óleo e biodiesel, respectivamente. As amostras de biodiesel, como também as amostras certificadas (NIST 2772 e 2773), foram enriquecidas com $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb e $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de As e Se (concentrações finais para as soluções de leitura). Já na amostra certificada NIST 1634 e em algumas das amostras de óleo cru foi adicionado apenas Sb, cuja concentração na solução de leitura foi de $40 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb. Os frascos foram fechados, selados e

colocados nas camisas de metal, que foram fechadas com o auxílio de um torquímetro. Estes foram introduzidos no bloco digestor (Figura 6) e submetidas ao programa de temperatura adequado para cada tipo de amostra, mostrado na Tabela 10. Encerrado o programa de digestão, os frascos foram resfriados e abertos, as soluções foram transferidas para frascos descartáveis de polipropileno de 50,00 mL e os frascos de Teflon lavados com água deionizada, tomando-se o cuidado de juntar a água de lavagem às soluções das amostras digeridas. Os brancos das amostras foram preparados apenas com HNO_3 seguindo todo o procedimento de decomposição.

Tabela 10: Programas utilizados na decomposição das amostras no bloco digestor.

Temperatura, °C	Tempo, min	
Amostras de óleo	Rampa	Permanência
200	180	180
26	29	120
Amostras de biodiesel	Rampa	Permanência
220	90	60
Limpeza dos frascos	Rampa	Permanência
220	100	30

Após a decomposição ácida de todas as amostras, foi realizada uma evaporação, a fim de eliminar o excesso de HNO_3 adicionado na etapa de decomposição ácida, reduzindo o volume à 0,5 mL aproximadamente. A chapa foi mantida em aproximadamente 100 °C, não tolerando um aumento desta temperatura, pois poderia provocar ebulição e projeção da solução, causando perda dos analitos.

Em seguida, as amostras foram submetidas ao tratamento específico para cada tipo de análise empregada.

4.5.3

Preparo das amostras decompostas para análise direta

Com as amostra já previamente decompostas e evaporadas, foram completados os volumes com água para um volume final de 5 mL.

4.5.4

Preparo das amostras decompostas para análise por geração de vapor

Após a decomposição e evaporação, as amostras foram esfriadas e submetidas à etapa de pré-redução com HCl. Para isso, foi preparada uma solução estoque de HCl 8 mol L⁻¹ e as amostras foram avolumadas à 5,0 mL com esta solução. Em seguida, foram submetidas a aquecimento por 20 minutos à 100°C. Antes das análises, foram adicionadas 2 gotas de dimeticona em cada amostra.

4.6

Curvas de calibração

4.6.1

Curva de calibração para análise por introdução direta das amostras diluídas em xileno

Para a determinação de As, Sb e Se por introdução direta com diluição em xileno, construiu-se uma curva de calibração preparada com padrões orgânicos diluídos em xileno, nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,5 e 1 mg kg⁻¹, para todos os elementos. O branco da curva foi apenas xileno.

4.6.2

Curva de calibração para análise por introdução direta das amostras após decomposição ácida

A curva de calibração para a análise direta das amostras de óleo cru e biodiesel após decomposição ácida foi preparada utilizando padrões inorgânicos de As, Sb e Se em 5% HNO₃, nesse caso, as concentrações foram de 0,1; 0,2; 0,5 e 1 mg L⁻¹. O branco da curva foi HNO₃ 5%.

4.6.3

Curva de calibração para análise por geração de vapor

4.6.3.1

Curva de calibração para análise por geração de vapor utilizando HCl como pré-redutor

Na determinação de As, Sb e Se por geração de vapor fazendo o uso do HCl na etapa de pré-redução, construiu-se três diferentes curvas de calibração para cada analito. Primeiramente construiu-se uma curva aquosa com padrão externo, o qual seria o meio mais prático e rápido, a fim de compará-la com duas curvas de adição do analito: uma contendo amostra de biodiesel e a outra contendo óleo cru. As três curvas de calibração foram preparadas com padrões inorgânicos de As, Sb e Se diluídos em HCl 8 mol L⁻¹, nas concentrações de 10, 20, 30 e 40 µg L⁻¹, para todos os analitos. Nas curvas de adição do analito, as porções de amostras adicionadas foram submetidas ao mesmo tratamento de decomposição ácida realizado nas amostras analisadas. Para tal, foram utilizados 4 mL de amostra, em HCl 8 mol L⁻¹, e adicionadas porções referentes às concentrações desejadas dos padrões inorgânicos dos três analitos. As concentrações finais foram recalculadas e processadas pelo programa do próprio espectrômetro de ICP OES. Os brancos das curvas foram HCl 8 mol L⁻¹, para a calibração com padrão externo, e biodiesel ou óleo cru também em HCl 8 mol L⁻¹, para calibração com adição do analito. Todos os pontos da curva foram submetidos a aquecimento por 20 minutos à 100°C e adicionados de 2 gotas de dimeticona, assim como as amostras.

4.6.3.2

Curva de calibração para análise por geração de vapor utilizando tiouréia como pré-redutor

Foi montada uma curva de calibração empregando a tiouréia na pré-redução para verificar os possíveis limites de detecção. Sendo assim, prepararam-se os pontos 10, 20, 30 e 40 µg L⁻¹ com padrões inorgânicos de As, Sb e Se, em HCl 6 mol L⁻¹. Foi adicionado 0,02 mol L⁻¹ de tiouréia em todos os pontos. O branco da curva foi HCl 6 mol L⁻¹ com 0,02 mol L⁻¹ de tiouréia. Foi respeitado o mínimo de 45 minutos entre o tempo da adição da tiouréia e análise dos referidos pontos da curva de calibração.

4.7

Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ)

O limite de detecção constitui a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. Já o limite de quantificação é definido como a menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra com exatidão e precisão aceitáveis, sob as condições experimentais adotadas.

Segundo o documento orientativo CGCRE-008 do Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO)¹⁴⁹ é recomendado um mínimo de 7 leituras para a determinação do LOD. Entretanto, o mesmo documento afirma que o limite de detecção para um procedimento analítico pode variar em função do tipo da amostra e, por isso, não pode ser atribuída uma única fórmula estatística que atenda todos os casos.

Para determinar os limites de detecção para as introduções direta das amostras (por diluição em xileno e decomposição ácida das amostras) fez-se 10 leituras do branco de cada curva de calibração. Sendo assim, verificou-se o desvio padrão (S_b) destas leituras e a inclinação da curva de calibração ($\text{tg } \alpha$), para que pudesse aplicar a Equação 5:

$$\text{LOD} = \frac{3 \times S_b}{\text{tg } \alpha}$$

Eq. 5

Em se tratando dos LODs para a geração de vapor (com pré-redução utilizando HCl e tiouréia) fez-se 5 leituras do branco de cada curva de calibração, pois os métodos propostos possibilitam apenas a recuperação de 5 mL de cada alíquota das amostras para a análise. Da mesma forma que foi calculado o LOD para a introdução direta das amostras, para a geração de vapor também se fez o uso da Equação 5

O limite de quantificação, para todas as metodologias empregadas neste trabalho, foi determinado multiplicando o LOD por 3,3.