

## 5 Resultados e discussões

### 5.1. Determinação de Se e As por injeção direta com uso da célula de reação (DRC-ICP-MS)

#### 5.1.1. Escolha do solvente

Como já mencionado (item 4.1.3), a introdução de solventes orgânicos no plasma causa uma série de inconvenientes. Portanto, a análise de amostras orgânicas por diluição em solvente orgânico requer que sejam tomados vários cuidados para diminuir a quantidade deste solvente que chega ao plasma ( $Q_{spl}$  – *Quantity of solvent plasma loaded*). É importante que o solvente seja capaz de dissolver adequadamente a amostra, bem como seguro ao analista. Além disso, é importante que sejam utilizados acessórios e condições específicas para essa situação, usando um sistema de introdução com dessolvatação, que reduz a  $Q_{spl}$  e um micronebulizador que reduz a taxa de introdução de amostra no plasma, assim como a adição de oxigênio, para auxiliar a decomposição dos compostos orgânicos.

O parâmetro  $Q_{spl}$  pode ser calculado a partir de uma equação sugerida por Maessen em 1986, baseada na lei dos gases ideais (DUYCK, C., *et al.*, 2002):

$$Q_{spl} (\text{mg s}^{-1}) = 0,27 \times Q_G (\text{L min}^{-1}) \times P_{\text{vap}} (\text{mmHg}) \times MM (\text{g mol}^{-1}) / T (\text{K})$$

Onde,  $Q_{spl}$  é a quantidade de solvente que chega ao plasma;  $Q_G$  é a vazão do gás de nebulização;  $P_{\text{vap}}$  é a pressão de vapor do solvente a uma dada temperatura;  $MM$  é a massa molar do solvente empregado e  $T$  a temperatura.

A pressão de vapor pode ser estimada pela equação de Antoine, que utiliza parâmetros empíricos determinados para cada solvente em questão, como segue:

$$\log P_{\text{vap}} = A - B / (C + T)$$

Onde A, B e C são os parâmetros determinados empiricamente e T é a temperatura, em K. A Tabela com os parâmetros empíricos para o cálculo da pressão de vapor pela equação de Antoine se encontra no anexo II deste trabalho.

Como a pressão de vapor aumenta com a temperatura, é de se esperar que Qspl também aumente com a temperatura e, portanto, o uso de uma câmara de nebulização resfriada também deve reduzir a Qspl. A figura 13 mostra o comportamento do Qspl em função da temperatura para alguns solventes, confirmando o comportamento esperado.

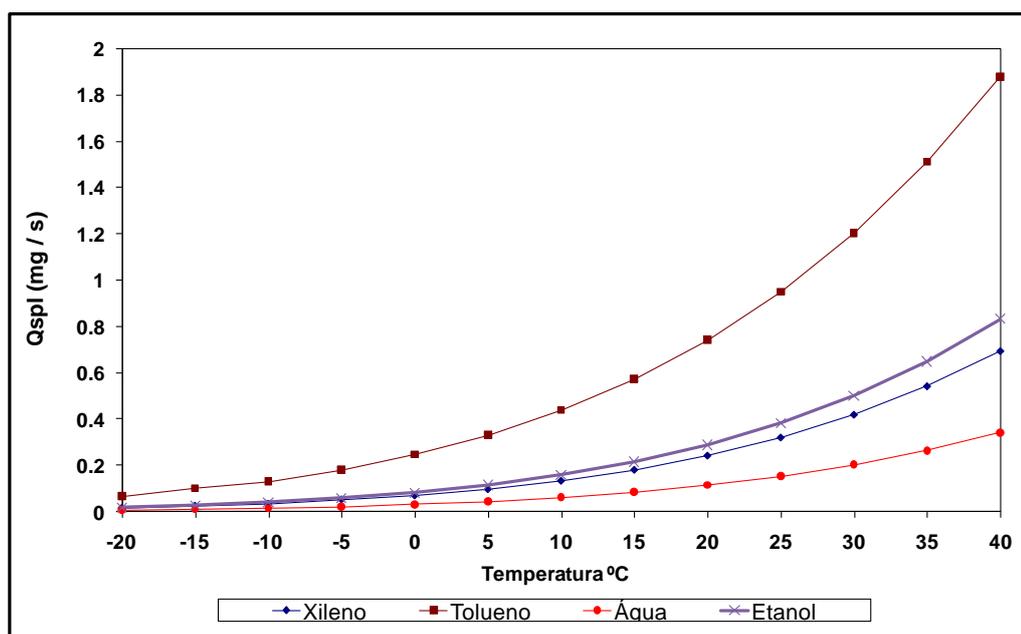


Figura 13: Qspl (*Quantity solvent plasma loaded*) em função da temperatura

A partir da avaliação desses dados, uma vez que são desejáveis baixos valores de Qspl, tendo em vista a capacidade do solvente em dissolver a amostra e de causar o mínimo de inconvenientes para o analista e para a análise, escolheu-se o xileno como o solvente a ser empregado nas diluições. Além disso, a fim de reduzir ainda mais a Qspl, foi empregada uma câmara de nebulização com sistema

de refrigeração Isomist e a temperatura de operação foi controlada em 5 °C durante toda a análise.

### 5.1.2.

#### Otimização dos parâmetros da célula de reação

O desenvolvimento de métodos analíticos em espectrometria de massa para a determinação de Se e As, em amostras orgânicas, sem decomposição da mesma, é um estudo desafiador, visto que esses analitos podem ser fortemente interferidos por espécies como  $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$  e  $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$  no caso do  $^{80}\text{Se}$  e  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$  no caso do  $^{75}\text{As}$ . Essas interferências são formadas por elementos presentes na amostra, como o Cl, ou na atmosfera, como o  $\text{H}_2$ , que se recombina com o argônio do plasma.

Embora os parâmetros do ICP-MS sem célula, tais como a potência e as vazões de gás fossem otimizados antes do emprego da célula de reação, houve necessidade, nesse caso, de começar pelos parâmetros da célula, por causa da amplitude da interferência  $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$  no isótopo  $^{80}\text{Se}$ . O metano usado como gás de reação reage com as espécies interferentes, formando espécies neutras com razão m/z diferente do analito em questão. Com o intuito de se obter o máximo de sensibilidade, optou-se por monitorar  $^{75}\text{As}$  e o isótopo mais abundante do selênio,  $^{80}\text{Se}$ , otimizando as condições operacionais da célula de reação dinâmica para se ter o mínimo de interferências. Os parâmetros avaliados foram: (1) a vazão do gás de reação e (2) o parâmetro de rejeição R<sub>pq</sub>. As condições para otimização da célula foram 1500 W de potência, 0,4 L min<sup>-1</sup> e 1,1 L min<sup>-1</sup> de vazões de Ar nebulizador e auxiliar, respectivamente e uma taxa de aspiração da bomba peristáltica de 0,2 mL min<sup>-1</sup>.

A figura 14 mostra a otimização do gás de reação para os padrões orgânicos de Se e As diluídos em xileno na concentração de 10 µg kg<sup>-1</sup>, na qual se observa a vantagem do uso da célula para Se enquanto para As, não se observam evidências de redução de interferências, uma vez que não são esperadas interferências, pois o principal interferente do isótopo  $^{75}\text{As}$  é o  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ , e cloro não deve estar presente nem no padrão nem no solvente, a não ser na forma de partículas salinas que são em grande parte removidas na dessolvatação. Essa otimização foi feita fixando-se o parâmetro de rejeição R<sub>pq</sub> no valor *default* de 0,25.

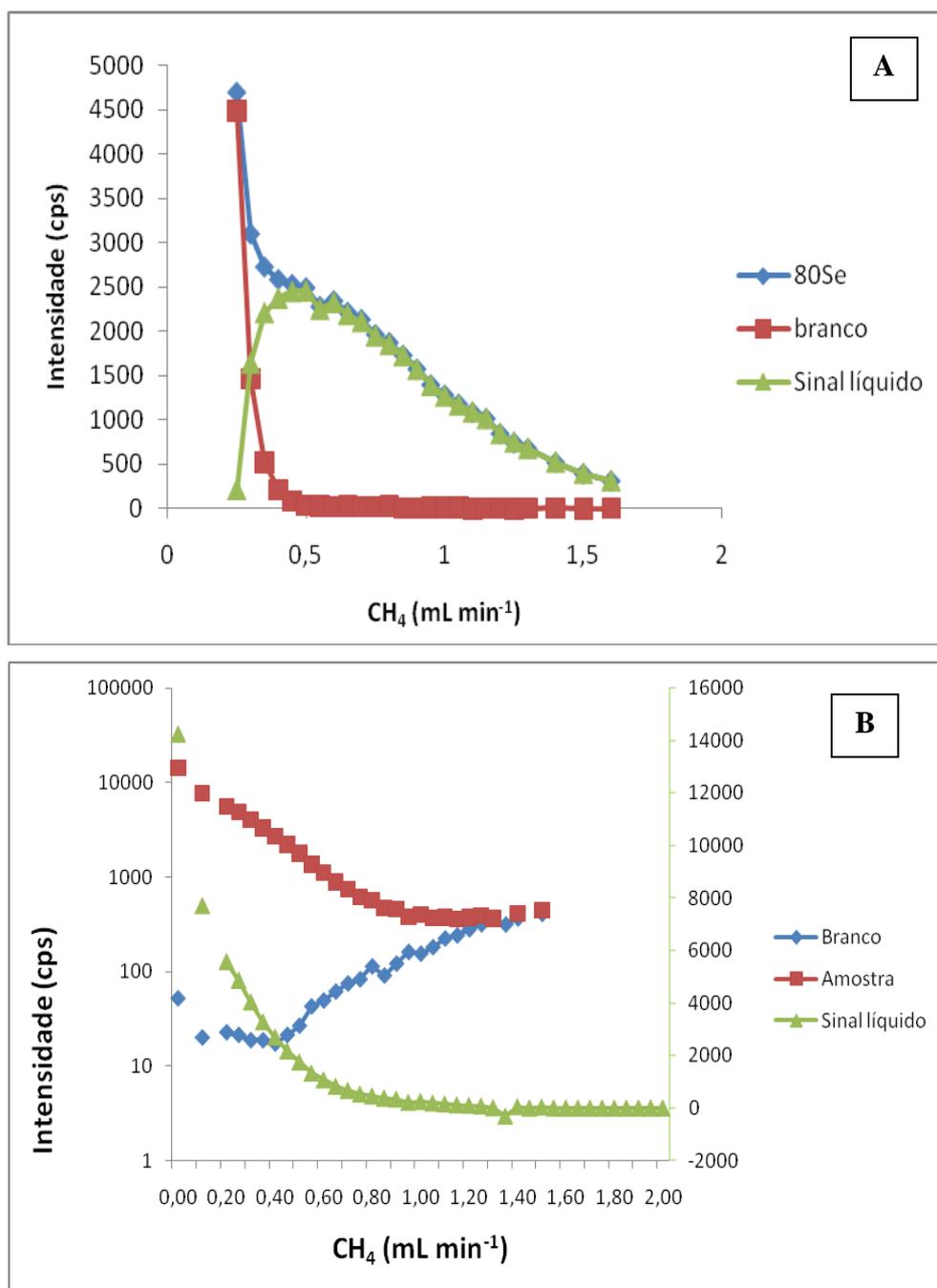


Figura 14: (A) Otimização da vazão do gás de reação ( $\text{CH}_4$ ) para o isótopo  $^{80}\text{Se}$

(B) Otimização da vazão do gás de reação ( $\text{CH}_4$ ) para o isótopo  $^{75}\text{As}$

Como pode ser observado na figura 14, o metano empregado como gás de reação reduziu de forma significativa o *background* característico para o isótopo  $^{80}\text{Se}$ . Embora o gráfico B indique a inexistência de interferências na determinação de arsênio, foi feita uma avaliação nas nove amostras de óleos a fim de verificar a presença de cloreto. Concluiu-se que, todas as amostras estavam isentas de tal elemento, permitindo assim, que a determinação do isótopo  $^{75}\text{As}$  pelo método

proposto fosse realizada sem o uso da célula, ou seja, a vazão do gás metano foi zero e não foi preciso otimizar o valor de R<sub>pq</sub>.

Assim, com a vazão ótima escolhida para o isótopo <sup>80</sup>Se em 0,5 mL min<sup>-1</sup>, otimizou-se o R<sub>pq</sub>, como mostrado na figura 15. O valor de R<sub>pq</sub> escolhido foi 0,2, pois gerou o maior sinal líquido, ou seja, máximo de sensibilidade para o Se.

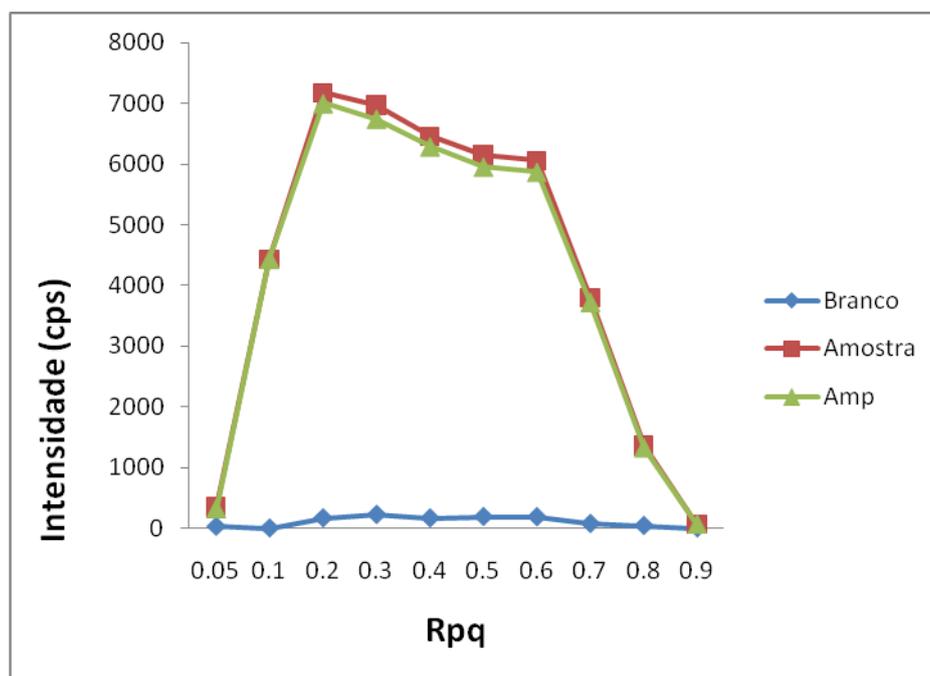


Figura 15: Otimização do parâmetro de rejeição R<sub>pq</sub> para o isótopo <sup>80</sup>Se

A eficiência de remoção dos interferentes com o uso do gás de reação pôde ser avaliado através da seguinte fórmula:

$$ER\% = [(IMP - IR) / IMP] \times 100$$

Onde:

ER% = Eficiência na Remoção de Interferentes

IMP = Intensidade Líquida no Modo Padrão

IR = Intensidade Líquida no Modo de Reação

O sinal obtido para o isótopo <sup>80</sup>Se no xileno puro, quando a vazão do gás metano é zero, ou seja, sem usar a célula (IMP), foi de 1516381 cps. Com vazão do gás em 0,5 mL min<sup>-1</sup>, o sinal foi de 35,5 cps, o que resultou em uma eficiência

de remoção das espécies interferentes (ER) de 100%, confirmando a importância e o sucesso no uso da célula de reação dinâmica.

### 5.1.3.

#### Otimização das condições operacionais do plasma

Usando os parâmetros de célula estabelecidos para determinar  $^{80}\text{Se}$ , realizou-se uma otimização univariada dos parâmetros de operação do plasma. A potência da RF e as vazões de Ar de nebulização e Ar auxiliar foram otimizados, usando uma solução padrão de Se e As de  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ , para definir intervalos de valores aplicáveis à análise multivariada.

Primeiramente, a potência e a vazão do Ar auxiliar foram fixadas em 1300 W e  $1,1 \text{ L min}^{-1}$ , respectivamente, e a vazão do Ar de nebulização foi variada de  $0,20$  a  $0,50 \text{ L min}^{-1}$ , com incrementos de  $0,05 \text{ L min}^{-1}$ , como mostrado na figura 16.

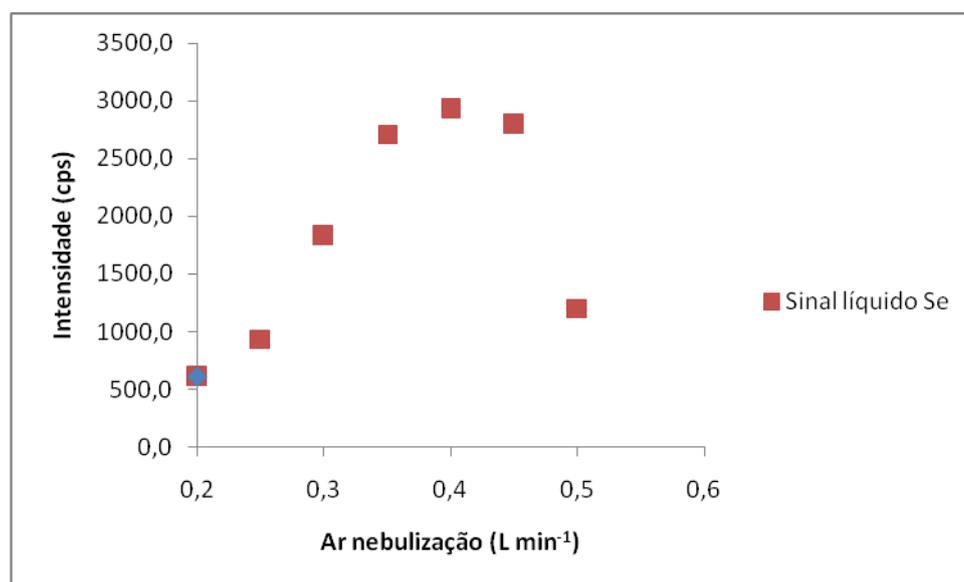


Figura 16: Otimização univariada do Ar de nebulização para o Se

Em seguida, com a vazão do Ar de nebulização ótima fixada em  $0,40 \text{ L min}^{-1}$  e a vazão do Ar auxiliar fixada em  $1,1 \text{ L min}^{-1}$ , variou-se a potência da RF de 1100 a 1400 W, com incrementos de 50 W, como apresentado na figura 17.

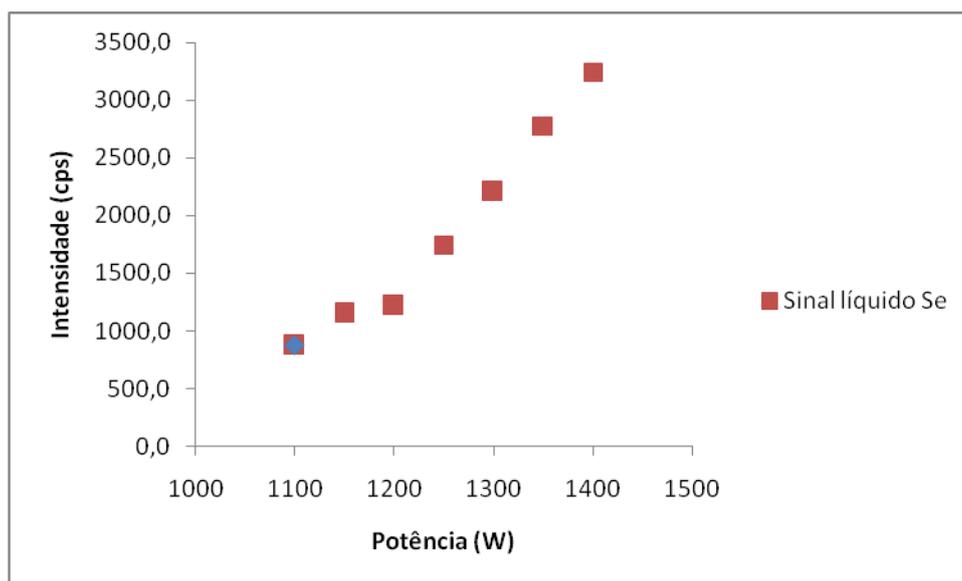


Figura 17: Otimização univariada da potência para o Se

A partir do gráfico na figura 17, verificou-se que a intensidade do sinal de Se aumentou com o aumento da potência de RF para toda a faixa estudada. Isso já era esperado, pois o solvente orgânico necessita uma maior potência do plasma, uma vez que consome maior energia comparada a soluções aquosas. Além disso, do ponto de vista termodinâmico, vale destacar que os elementos em questão (Se e As), cujas respectivas energias de ionização são  $940 \text{ kJ mol}^{-1}$  e  $947 \text{ kJ mol}^{-1}$ , não são 100% ionizados nas condições usualmente empregadas em ICP, requerendo também maior energia para aumentar esse percentual. Assim, foi estabelecida uma condição de compromisso de 1350 W para a potência de radiofrequência, a fim de amenizar o desgaste causado ao equipamento quando este trabalha no valor máximo recomendado pelo fabricante, de 1500 W.

Por último, a vazão do Ar auxiliar foi variada de  $0,6$  a  $1,2 \text{ L min}^{-1}$ , com incrementos de  $0,05 \text{ L min}^{-1}$  e a vazão do Ar de nebulização e a potência, já otimizados, foram fixadas em  $0,40 \text{ L min}^{-1}$  e 1350 W, respectivamente. A figura 18 mostra a otimização da vazão do Ar auxiliar.

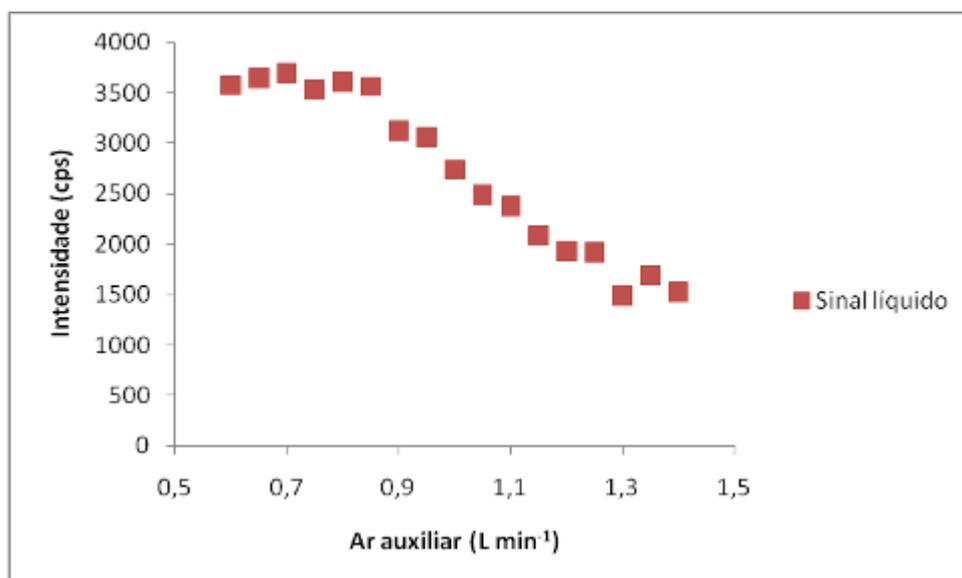


Figura 18: otimização univariada do Ar auxiliar para o Se

O que se observa na figura 18 é uma perda de sensibilidade significativa e contínua no sinal do analito com o aumento da vazão do Ar auxiliar.

A partir dos resultados observados nos estudos univariados, foi feita uma otimização multivariada com uma solução padrão de Se e As ( $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), seguindo o planejamento experimental apresentado na tabela 12. A matriz construída para a otimização dessas variáveis, bem como os resultados obtidos para a intensidade líquida do  $^{80}\text{Se}$  e do  $^{75}\text{As}$  em cada experimento, encontram-se na tabela 13 e os gráficos de Pareto resultantes são mostrados na figura 19.

Tabela 12: Valores mínimo, máximo e ponto central (0) das variáveis empregadas na otimização multivariada.

Fator	Variável	Mínimo (-)	(0)	Máximo (+)
1	Potência RF, W	1250	1300	1350
2	Vazão do Ar de nebulização, L min <sup>-1</sup>	0,35	0,4	0,45
3	Vazão do gás auxiliar, L min <sup>-1</sup>	0,7	0,75	0,8

Tabela 13: Matriz de planejamento para identificação das variáveis significativas na determinação direta de Se e As por DRC-ICP-MS.

Experimento	1	2	3	Intensidade líquida (cps)	
				Se	As
1	-	-	-	4777	13482
2	+	-	-	4837	13667
3	-	+	-	4748	16751
4	+	+	-	5690	19771
5	-	-	+	4799	13768
6	+	-	+	4845	14172
7	-	+	+	4489	16278
8	+	+	+	5408	19235
9	0	0	0	5622	16787
10	0	0	0	5564	17043
11	0	0	0	5627	16353

Fatores: 1: Potência (W); 2: Vazão Ar de nebulização (L min<sup>-1</sup>); 3: Vazão Ar auxiliar (L min<sup>-1</sup>).

Gráficos de Pareto foram feitos com 95% de confiança ( $p = 0,05$ ), com objetivo de observar a significância dos parâmetros nos intervalos usados. A figura 19 mostra os gráficos de Pareto obtidos para as intensidades líquidas de Se e As.

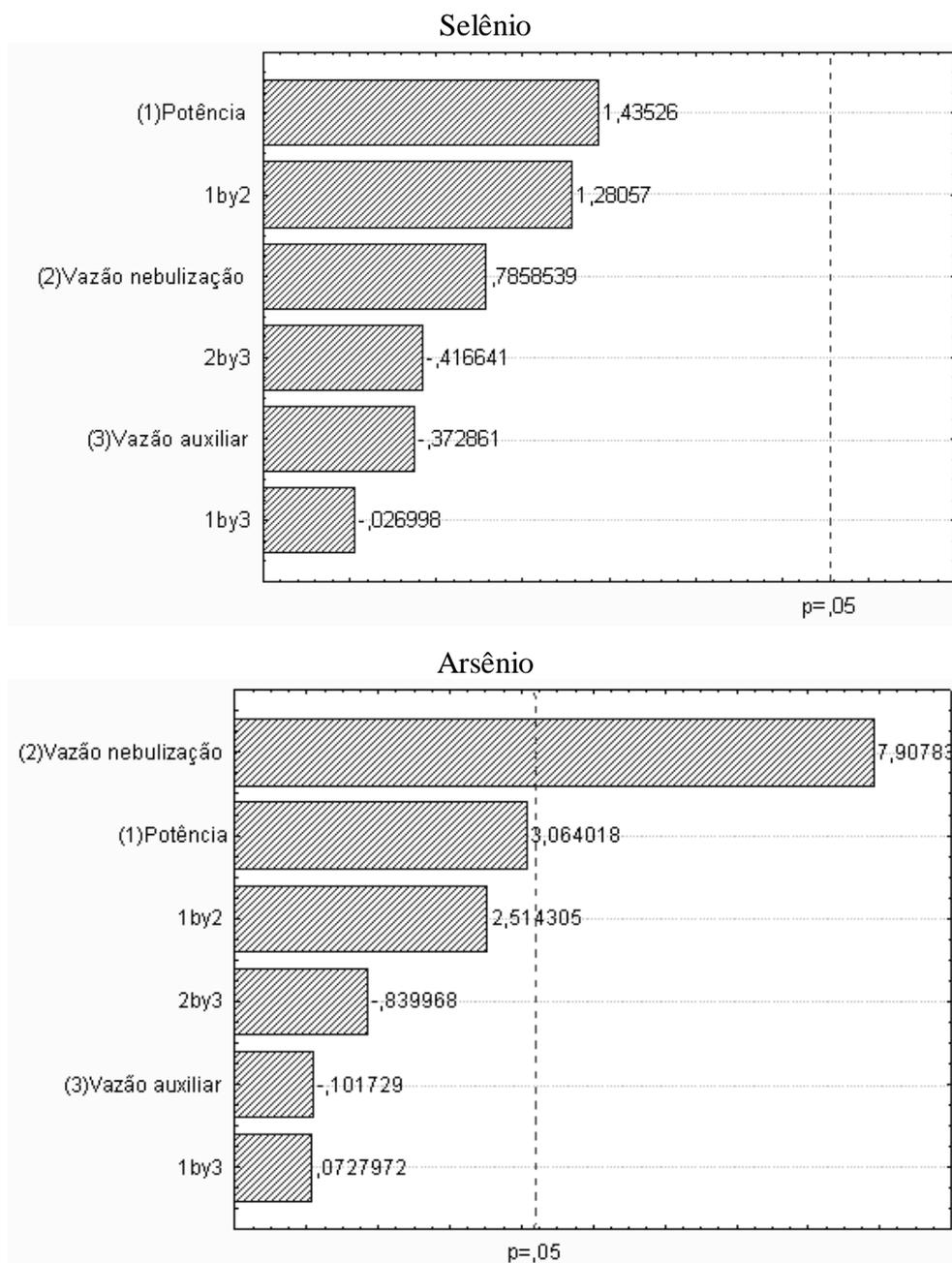


Figura 19: Gráficos de Pareto gerados na otimização das condições operacionais para determinação de Se e As nas amostras diluídas em xileno.

Como pode ser observado na figura 19, não houve parâmetro significativo para a determinação de Se, enquanto que para a determinação de As, a vazão do Ar de nebulização mostrou-se um fator relevante na otimização. Os resultados obtidos para os dois elementos mostraram que tanto a potência (1), quanto a vazão do Ar de nebulização (2), possuem efeito positivo. Portanto, o aumento desses dois parâmetros aumenta a sensibilidade do método, uma vez que conseguimos sinais de intensidades maiores. Já para a vazão de Ar auxiliar (3), o efeito é

negativo, ou seja, maior sensibilidade é obtida com valores mais baixos de Ar auxiliar.

Esse estudo também mostrou que os fatores variados (potência, vazão de Ar de nebulização e de Ar auxiliar) são independentes, não há efeito de interação significativo entre os parâmetros avaliados, indicando também que a otimização univariada é suficiente nesse caso.

#### 5.1.4. Avaliação da exatidão do método

Para avaliar a exatidão do método analítico proposto, foi analisado o material de referência certificado de óleo combustível residual, NIST 1634c, utilizando-se o método de adição de analito para a construção da curva analítica. Nesta análise, foi feita uma diluição de aproximadamente 20 vezes e as medições foram feitas em triplicata.

As curvas analíticas de Se e As construídas para o NIST 1634c apresentaram boa linearidade e sensibilidade, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) melhores do que 0,99, e estão apresentadas nas figuras 20 e 21. As demais curvas utilizadas na análise das replicatas estão apresentadas no anexo I.

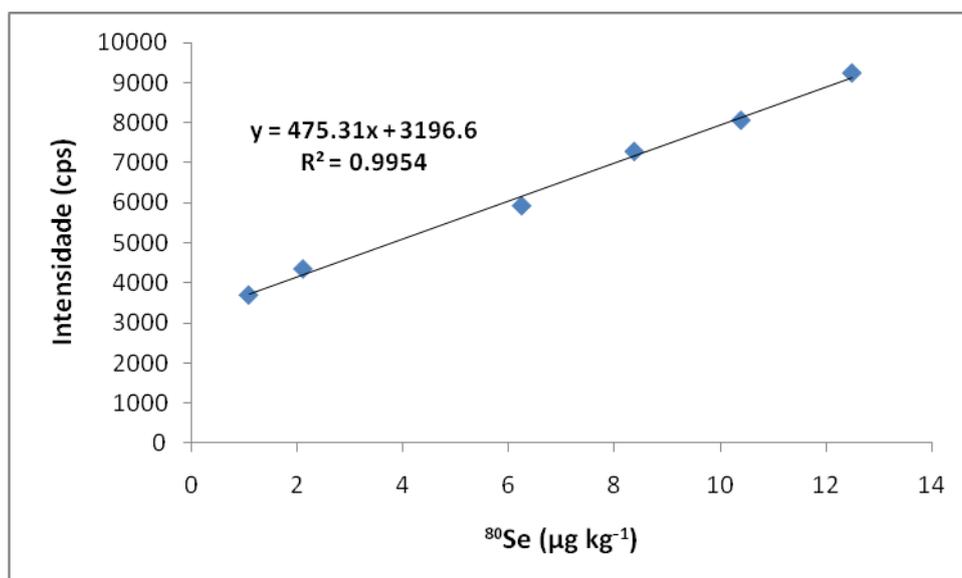


Figura 20: curva analítica do NIST 1634c na determinação de Se

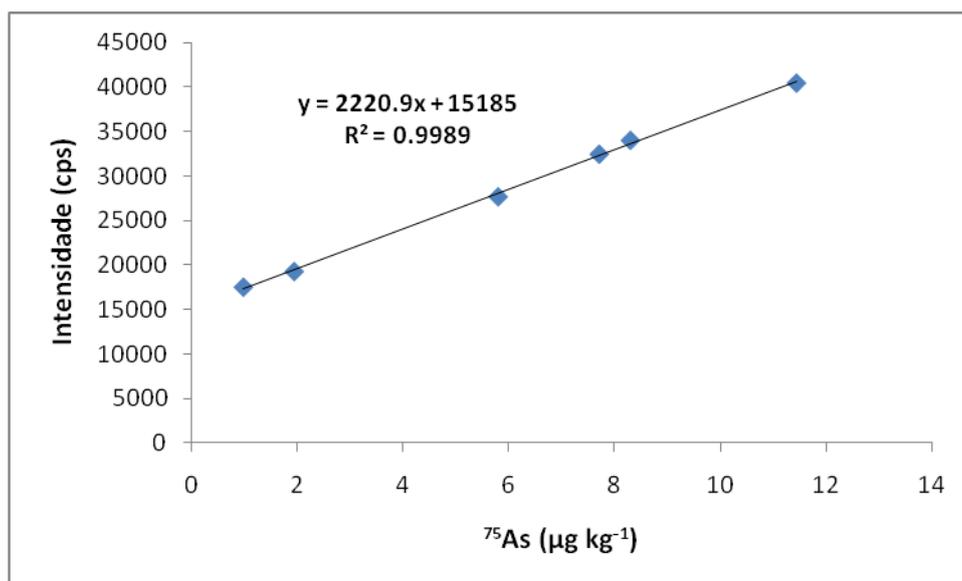


Figura 21: curva analítica do NIST 1634c na determinação de As

O limite de detecção instrumental, calculado para a solução analisada, e o limite de quantificação, calculado para a amostra, listados na tabela 14, foram calculados a partir de dez leituras do branco (xileno) e das fórmulas abaixo:

$$\text{LOD}_{\text{ins}} = 3 * S_{\text{branco}} / \text{coeficiente angular}$$

Onde,

$$S_{\text{branco}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}_i)^2}{n - 1}}$$

$$\text{LOQ} = 3,33 * \text{LOD}_{\text{ins}} * F \text{ (fator de diluição)}$$

Tabela 14: LOD e LOQ calculados para os elementos Se e As

Elemento	LOD instrumental ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )
Se	0,23	15,3
As	0,02	1,2

A tabela 15 mostra os valores de intervalo de confiança ( $n = 3$  e  $t = 4,3$ , para um nível de confiança de 95%) encontrados na determinação de selênio e arsênio no material certificado (NIST 1634c) pelo método proposto e as respectivas recuperações em relação aos valores certificados.

Tabela 15: Resultados obtidos pela análise do MRC NIST 1634c (concentrações em  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) para as triplicatas

Elemento	Valor certificado	DRC-ICP-MS (IC)	Recuperação (%)
Se	$102,0 \pm 3,8$	$99,2 \pm 0,2$	97
As	$142,6 \pm 6,4$	$133 \pm 4$	94

### 5.1.5. Aplicação analítica

Como já mencionado anteriormente, o método proposto foi empregado para determinar  $^{80}\text{Se}$ , por ser esse o isótopo de maior abundância e passível de determinação quando empregada a célula de reação, e  $^{75}\text{As}$  em nove amostras de óleo cru. Empregou-se a adição padrão para cada óleo com uma diluição de 10 vezes. Porém, nos óleos B, C, D e E, não foi possível determinar o isótopo  $^{80}\text{Se}$  pois os valores se encontraram abaixo do limite de detecção ( $< \text{LOD}$ ), e por isso, para esses óleos, o isótopo determinado foi o  $^{78}\text{Se}$  sem utilização da célula. A tabela 16 apresenta os valores de sensibilidade e LOD obtidos nesta análise.

Tabela 16: valores de sensibilidade e LOD obtidos na determinação de Se e As nas nove amostras de óleos.

Óleos	Sensibilidade			LOD ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	
	$^{78}\text{Se}$	$^{80}\text{Se}$	$^{75}\text{As}$	Se	As
A	n.d.	615	2200	0,06	0,02
B	235	< LOD	1338	0,5*	0,02
C	296	< LOD	1257	0,5*	0,04
D	247	< LOD	1719	0,6*	0,04
E	272	< LOD	1247	0,6*	0,04
F	n.d.	495	1494	0,1	0,05
G	n.d.	362	769	0,08	0,04
H	n.d.	353	857	0,08	0,03
I	n.d.	468	857	0,06	0,03

n.d. – não determinado e < LOD – abaixo do limite de detecção

\* LOD calculado para o  $^{78}\text{Se}$

Como se vê, os limites de detecção encontrados para os óleos B, C, D e E, em que o isótopo monitorado foi o  $^{78}\text{Se}$  sem o uso da célula, foram da ordem de 7 a 8 vezes maior que os encontrados para os demais óleos, nos quais o  $^{80}\text{Se}$  foi determinado usando a célula de reação e mostrando sua eficiência em melhorar a sensibilidade do método.

Antes de realizar as análises do isótopo  $^{78}\text{Se}$  para os óleos B, C, D e E, foi feito um estudo para o óleo B pensando que para esses óleos em que não foi possível determinar o isótopo  $^{80}\text{Se}$ , seria necessária uma otimização individual da vazão do gás de reação para cada uma dessas matrizes. Porém, a figura 22 revela que o uso da célula não possibilita a determinação do isótopo desejado ( $^{80}\text{Se}$ ), pois nas vazões iniciais não há sensibilidade suficiente para se realizar uma análise e em vazões a partir de  $0,2 \text{ mL min}^{-1}$ , ocorre um aumento significativo no sinal da amostra. Esse fenômeno é um indício da incidência de interferências originadas na célula, provavelmente pela reação entre elementos componentes da amostra com o gás metano.

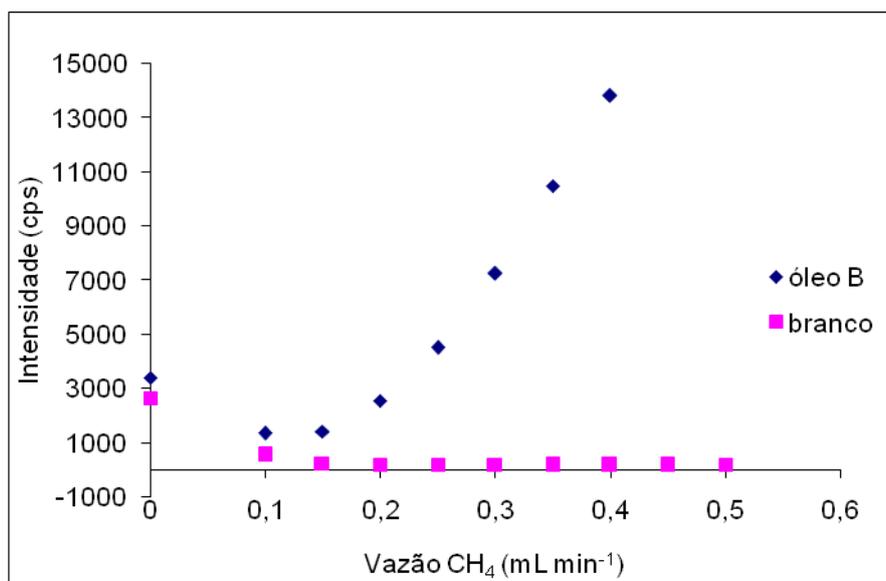
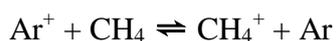
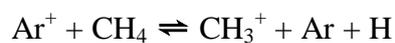
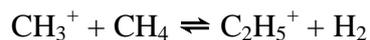
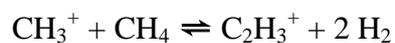


Figura 22: avaliação da vazão do gás de reação para o óleo B na análise de <sup>80</sup>Se

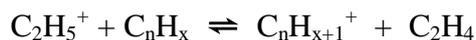
Quando se emprega CH<sub>4</sub>, promove-se uma sucessão de reações, as quais podem formar novas espécies interferentes em sequência (GINÉ-ROSIAS, M.F., 1999):



Reações subseqüentes podem acontecer, uma vez que o gás metano também reage com o cátion CH<sub>3</sub><sup>+</sup>, da seguinte forma:



As espécies C<sub>2</sub>H<sub>3</sub><sup>+</sup> e C<sub>2</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup> são bons doadores de prótons e se na célula há um hidrocarboneto neutro podem ocorrer reações do tipo:



Portanto, o uso da célula não é benéfico nestes casos e por esse motivo optou-se por analisar o  $^{78}\text{Se}$  sem a célula de reação nas matrizes dos óleos B, C, D e E.

A figura 23 abaixo mostra um estudo realizado a fim de avaliar a possível influência de interferentes presentes na matriz da amostra quando o isótopo  $^{78}\text{Se}$  é monitorado sem o uso da célula de reação dinâmica. Para esta avaliação usou-se um padrão de  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$  de selênio orgânico diluído em xileno.

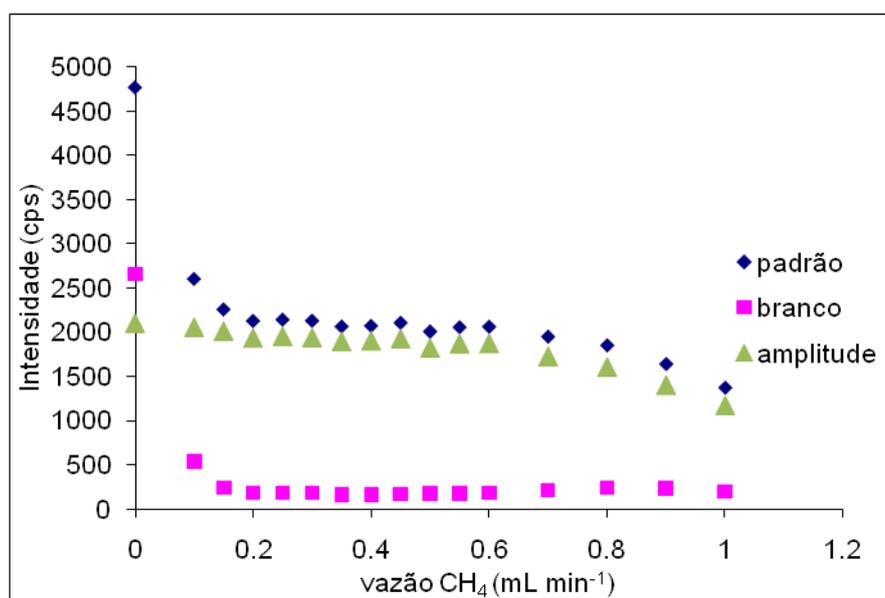


Figura 23: gráfico de avaliação de interferentes no isótopo  $^{78}\text{Se}$

O gráfico mostra que a incidência de interferentes é baixa, já que o sinal líquido se mantém praticamente inalterado com o uso da célula, mostrando a viabilidade de se determinar  $^{78}\text{Se}$  sem o emprego da célula de reação.

## 5.2.

### Determinação de Se e As por geração de hidretos (FI-HG-ICP-MS)

Um método desenvolvido por ALMEIDA, C.M.S. (2008) para a determinação de selênio por geração de hidreto em óleo cru foi também empregado para validar os resultados obtidos no método de análise por introdução direta.

Foi feita uma otimização para verificar as condições que deveriam ser aplicadas à potência de RF e à vazão do Ar de nebulização. Para isso, fixou-se a vazão do ar auxiliar em  $1,1 \text{ L min}^{-1}$  e a potência em  $1300 \text{ W}$  e variou-se o Ar de nebulização de  $0,8$  a  $1,15 \text{ L min}^{-1}$ , como mostrado na figura 24.

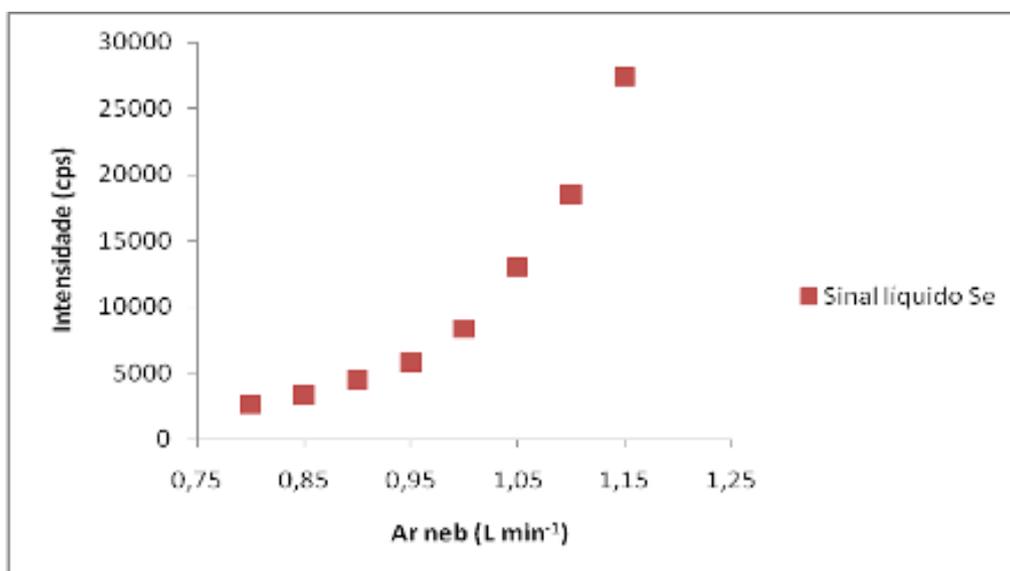


Figura 24: avaliação do Ar de nebulização na análise de  $^{82}\text{Se}$

Tabela 17: valores de sinal líquido e razão sinal/branco para as vazões de Ar de nebulização estudadas.

Vazão Ar neb (L min <sup>-1</sup> )	SBR	Sinal líquido*
0,8	6,5	2645
0,85	5,6	3335
0,9	5,7	4174
0,95	5,0	5796
1,0	5,2	8363
1,05	5,1	13000
1,1	4,6	18496
1,15	4,7	27378

Sinal líquido\* = sinal do padrão – sinal do branco;

SBR\* = sinal líquido / sinal do branco.

Apesar da razão sinal/branco para as vazões mais baixas do gás de nebulização ter sido a mais alta, o sinal líquido foi baixo, conforme observado na tabela 17. Portanto, empregou-se a vazão de 1,15 L min<sup>-1</sup> porque nesta vazão, apesar do SBR não ser o mais alto, ocorre um ganho considerável no valor do sinal líquido. O <sup>75</sup>As foi monitorado, mas numa faixa mais estreita do gás de nebulização e também apresentou o mesmo comportamento. Com o aumento da vazão do Ar de nebulização, ocorreu um aumento da intensidade e 1,15 L min<sup>-1</sup> também se mostrou uma boa vazão a ser empregada.

A figura 25 e a tabela 18 permitiram avaliar a influência da potência da RF na intensidade do sinal. Apesar dos valores de SBR serem muito parecidos, o que se observa é que o sinal líquido sofre uma queda com o aumento da potência, indicando que potências mais baixas devem ser empregadas. Com isso, o valor de potência escolhido foi de 1100 W, o qual apresenta o maior SBR e o maior sinal líquido, além de que, para amostras aquosas não se faz necessário potências muito altas, o que também contribui para um menor desgaste do equipamento.

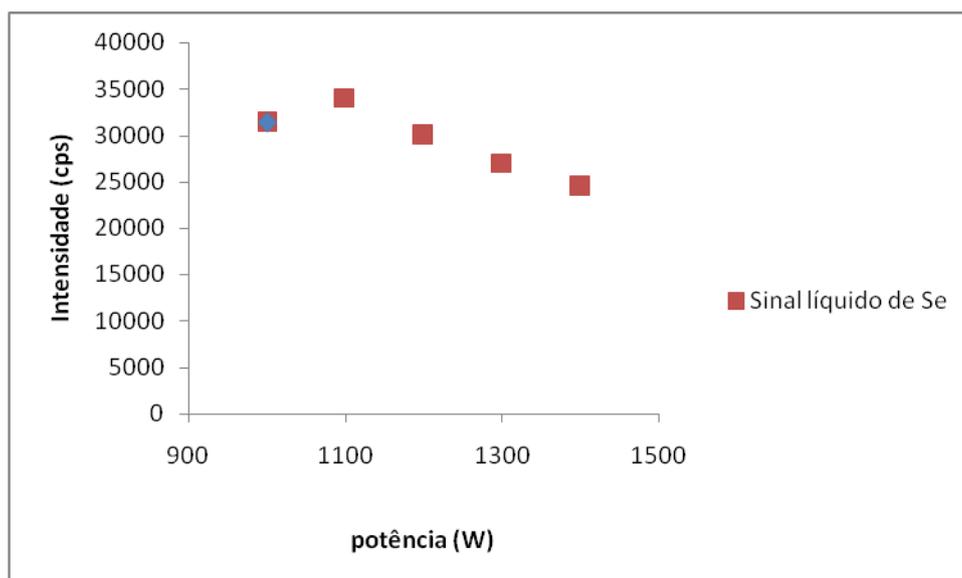


Figura 25: avaliação da potência na análise de  $^{82}\text{Se}$

Tabela 18: valores de sensibilidade e razão sinal/branco para os valores de potência estudados.

Potência (W)	SBR	Sinal líquido*
1000	6,07	31390
1100	6,13	34040
1200	5,85	29989
1300	5,92	27010
1400	6,13	24488

Sinal líquido\* = sinal do padrão – sinal do branco;

SBR\* = sinal líquido / sinal do branco

Todas as amostras de óleos e o material certificado de óleo combustível residual (NIST 1634c) foram submetidos ao processo de digestão ácida e, em seguida, à etapa de pré-redução, conforme descrito nos itens 4.1.4.1 e 4.1.4.2.

Todas as soluções de calibração foram preparadas com padrões inorgânicos em meio aquoso e submetidos à pré-redução. As curvas apresentaram boa linearidade com coeficientes de determinação melhores do que 0,999. Foram monitorados os isótopos  $^{75}\text{As}$ ,  $^{78}\text{Se}$  e  $^{82}\text{Se}$ .

Os limites de detecção encontrados foram  $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$  para Se, tanto medindo o isótopo  $^{78}\text{Se}$ , como o  $^{82}\text{Se}$ , e  $0,002 \mu\text{g L}^{-1}$  para As.

### 5.2.1. Avaliação da exatidão do método

Para avaliar a exatidão do método analítico empregado, foi analisado o material de referência de óleo, NIST 1634c, a partir de uma curva de calibração externa. A tabela 19 mostra os valores de concentração encontrados para o material certificado (NIST 1634c) na determinação de selênio e arsênio pela metodologia empregada, e os valores de recuperação obtidos em relação aos valores certificados.

Tabela 19: Resultados obtidos pela análise do MRC NIST 1634c (concentrações em  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ).

Elemento	Valor certificado	FI-HG-ICP-MS (IC)		Recuperação (%) 78/82
		$^{78}\text{Se}$	$^{82}\text{Se}$	
Se	102,0 +/- 3,8	101,7 +/- 2,1	101,1 +/- 1,6	99,7 / 99,2
$^{75}\text{As}$	142,6 +/- 6,4	143,2 +/- 3,5		100,4

n = 10 para Se e t = 2,26 a um nível de confiança de 95%

n = 3 para As e t = 4,30 a um nível de confiança de 95%

Como se pode observar, os valores de concentração total encontrados para Se, ao analisarmos os dois isótopos, mostram que, apesar da baixa abundância dos mesmos, a técnica de geração de hidretos é eficiente, pois ao separar o analito da matriz, ocorre um aumento da sensibilidade do método, permitindo a determinação. A determinação dos elementos em questão apresentou ótimos valores de recuperação, que indicam a exatidão do método, num nível de confiança de 95%.

### 5.2.2. Otimização da célula de reação para medição de $^{80}\text{Se}$ após a HG

O isótopo de Se mais abundante é o  $^{80}\text{Se}$ , que sofre interferência direta por parte do dímero de argônio ( $\text{ArAr}^+$ ) e normalmente não é usado para a determinação de Se por ICP-MS, a não ser que se use uma célula de reação. Com

o objetivo de melhorar a sensibilidade do método e, conseqüentemente, obter limites de detecção ainda mais baixos, foi feita a otimização das condições experimentais da célula de reação e a posterior determinação do LOD do método por HG acoplado ao DRC-ICP-MS, medindo-se o isótopo  $^{80}\text{Se}$ .

Aplicando-se os mesmos valores de vazões de Ar de nebulização e de Ar auxiliar e potência otimizados na geração de hidreto para o  $^{82}\text{Se}$ , foi otimizada a vazão do gás de reação (metano), variada de 0 a  $1,4 \text{ mL min}^{-1}$  e monitorando o isótopo  $^{80}\text{Se}$ . A figura 26 mostra esta otimização para a geração de hidreto de uma solução de  $\text{Se } 2 \mu\text{g L}^{-1}$  e para o branco.

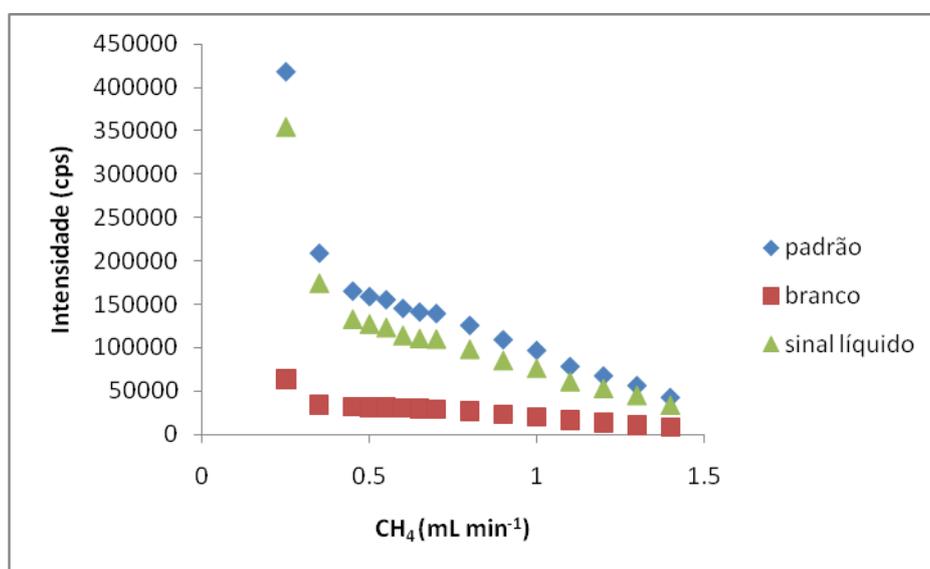


Figura 26: otimização do gás de reação para a determinação de  $^{80}\text{Se}$

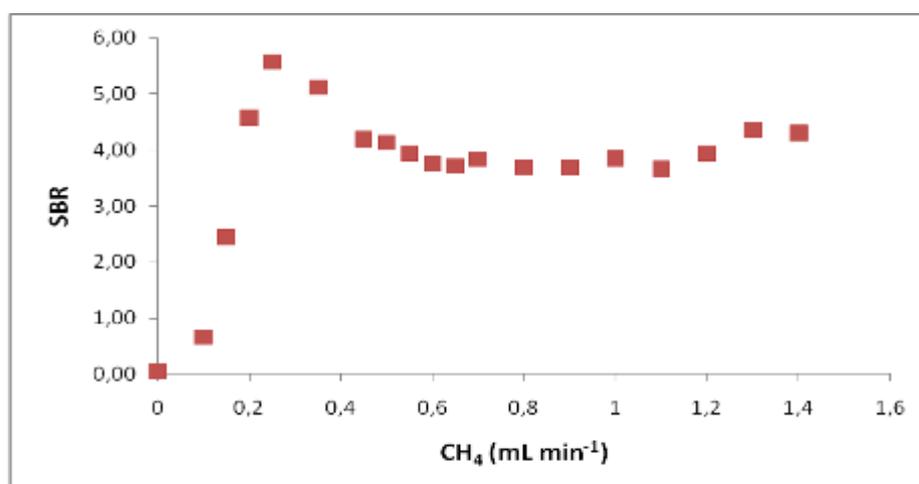


Figura 27: avaliação da razão sinal ruído com a variação da vazão do gás de reação

As figuras 26 e 27 mostram a eficiência da célula de reação ao diminuir o sinal, com o aumento da vazão do gás de reação, tanto do padrão quanto do branco, o qual é um indicador de interferências na determinação do isótopo em questão. Para a escolha da vazão do gás metano foi levado em consideração o valor do SBR juntamente com a amplitude dos sinais (sinal líquido). A faixa de vazão do gás de 0,35 a 0,55 mL min<sup>-1</sup> apresentou-se estável, já que os valores de amplitude (sinal líquido) não variaram muito e portanto, a condição ótima do gás encontra-se dentro desta faixa porque uma pequena variação na vazão do gás escolhida não acarretaria em perda de sensibilidade significativa. Os valores de SBR para esta faixa de vazão são parecidos e então, baseando-se também na otimização feita para a célula quando a introdução direta é aplicada, escolheu-se a vazão de 0,5 mL min<sup>-1</sup>.

Com as condições escolhidas, construiu-se uma curva analítica, conforme descrito no item 4.1.4.3. Foi calculado o LOD e determinada a concentração de Se em 4 amostras de água de referência interna, que contêm Se na faixa de concentração de 32 a 65 µg L<sup>-1</sup>.

Todos os resultados dessas amostras de água concordaram com os valores de referência, indicando que a técnica é adequada e com sensibilidade suficiente para determinar selênio, a partir da medição do isótopo <sup>80</sup>Se por FI-HG-ICP-MS com a célula de reação. Porém, o limite de detecção obtido foi de 0,04 µg L<sup>-1</sup>, ou seja, não houve melhora alguma no LOD quando comparado com os limites encontrados para os isótopos <sup>78</sup>Se e <sup>82</sup>Se, sem utilizar a célula. Isso ocorreu porque o sinal do branco também aumentou junto com o ganho de sinal dos padrões com o uso da célula.

### 5.3.

#### **Comparação das técnicas empregadas neste trabalho**

Para comparação dos resultados e consequente validação dos mesmos, foi realizado um teste estatístico de hipótese baseado na distribuição de t de *Student*.

Antes de aplicar o teste t, fez-se o teste F para verificar se as variâncias dos métodos podem ser consideradas iguais, calculando-se:

$$F_{\text{calculado}} = S_1^2 / S_2^2$$

Onde  $S_1^2$  e  $S_2^2$  são as variâncias dos métodos, com a maior variância no numerador. Ao mesmo tempo, obtém-se o valor de  $F_{\text{tabelado}}$ , com  $(n_1-1)$  graus de liberdade no numerador e  $(n_2-1)$  graus de liberdade no denominador, adotando-se um nível de confiança de 95%. A partir daqui podemos ter duas situações: (1) se o  $F_{\text{calculado}}$  for menor que o  $F_{\text{tabelado}}$ , as variâncias podem ser consideradas iguais, pois não apresentam diferença estatística e então emprega-se o  $S_{\text{combinado}}$  através da seguinte fórmula:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{s^2 \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

Onde  $s^2 = [(n_1-1) \times s_1^2 + (n_2-1) \times s_2^2] / (n_1+n_2 - 2)$  e  $n_1$  e  $n_2$  são os tamanhos das amostras 1 e 2.

Já a situação (2) em que  $F_{\text{calculado}}$  é maior que o  $F_{\text{tabelado}}$ , as variâncias não podem ser consideradas iguais, ou seja, a matriz tem um efeito importante sobre a precisão do método na faixa de concentração em estudo, diferentemente da situação (1), e o  $t_{\text{calculado}}$  é:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

Neste caso, para a obtenção do  $t_{\text{tabelado}}$ , o número de graus de liberdade ( $v$ ) é igual a:

$$v = \frac{\left( \frac{S_1^2}{\square} n_1 + \frac{S_2^2}{\square} n_2 \right)^2}{\frac{\left( \frac{S_1^2}{\square} n_1 \right)^2}{n_1 + 1} + \frac{\left( \frac{S_2^2}{\square} n_2 \right)^2}{n_2 + 1}} - 2$$

A tabela 20 mostra os resultados obtidos na determinação de Se e As pelas duas técnicas empregadas e as tabelas 21 e 22 listam os valores de  $F_{\text{calculado}}$  e

$t_{\text{calculado}}$  para cada um dos nove óleos analisados na determinação de Se e As respectivamente.

Tabela 20: valores de concentração encontradas na análise de Se e As em óleo cru com os respectivos valores de desvio-padrão para  $n = 3$ .

Óleos	DRC-ICP-MS ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )		FI-GH-ICP-MS ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	
	Se	As	Se	As
A	30,7 +/- 2,1	63,7 +/- 4,8	31,9 +/- 0,2	47,7 +/- 2,3
B	31,9 +/- 2,2	57,2 +/- 0,1	30,6 +/- 1,1	45,2 +/- 4,7
C	57,4 +/- 0,4	101,6 +/- 0,4	57,7 +/- 0,5	85,5 +/- 0,3
D	67,8 +/- 0,5	69,8 +/- 0,9	68,0 +/- 0,8	70,2 +/- 0,3
E	33,5 +/- 1,1	52,9 +/- 0,9	33,7 +/- 0,2	46,2 +/- 0,2
F	63,8 +/- 4,0	80,1 +/- 1,5	67,6 +/- 0,5	66,6 +/- 1,7
G	35,1 +/- 5,7	81,4 +/- 0,6	39,6 +/- 0,2	81,8 +/- 0,8
H	37,6 +/- 1,4	84,9 +/- 0,2	40,0 +/- 0,3	85,1 +/- 1,1
I	15,2 +/- 0,5	2,75 +/- 0,1	14,1 +/- 0,7	2,5 +/- 0,1

Tabela 21: teste de hipótese para comparação entre as duas metodologias na determinação de Se

Óleos	Teste F			Teste T $\sigma^2$ iguais		Teste T $\sigma^2$ diferentes	
	$\sigma^2$ DRC	$\sigma^2$ GH	$F_{\text{calculado}}$	$S_{\text{combinado}}$	$t_{\text{calculado}}$	$v_{\text{calculado}}$	$t_{\text{calculado}}$
A	4,41	0,0256	172,3			2,03	0,99
B	4,84	1,21	4,0	2,662	0,87		
C	0,123	0,281	2,29	0,217	0,71		
D	0,240	0,624	2,60	0,4705	0,32		
E	1,21	0,0576	21,0			2,29	0,48
F	16,0	0,212	75,6			2,08	1,6
G	32,5	0,0484	671,3			2,01	1,4
H	1,96	0,0961	20,4			2,29	2,9
I	0,240	0,49	2,04	0,39	1,9		

$t_{\text{tab}}$  para amostras com variâncias iguais a 95% de confiança = 2,57

$t_{\text{tab}}$  para amostras com variâncias diferentes a 95% de confiança = 4,3

Tabela 2: teste de hipótese para comparação entre as duas metodologias na determinação de As.

Óleos	Teste F			Teste T $\sigma^2$ iguais		Teste T $\sigma^2$ diferentes	
	$\sigma^2$ DRC	$\sigma^2$ GH	F <sub>calculado</sub>	S <sub>combinado</sub>	t <sub>calculado</sub>	v <sub>calculado</sub>	t <sub>calculado</sub>
A	23,0	5,29	4,36	14,2	5,2		
B	0,00504	22,1	4,0			2,002	4,4
C	0,123	0,0784	1,56	0,1005	62,2		
D	0,846	0,0784	10,8	0,462	0,72		
E	0,846	0,0441	19,2			2,416	12,3
F	2,25	2,89	1,28	2,57	10,3		
G	0,325	0,723	2,22	0,524	0,677		
H	0,0441	1,21	27,4			2,291	0,31
I	0,00504	0,0196	3,89	0,0123	2,76		

t<sub>tab</sub> para amostras com variâncias iguais a 95% de confiança = 2,78

t<sub>tab</sub> para amostras com variâncias diferentes a 95% de confiança = 4,3

Para a determinação de selênio em todos os óleos, as duas metodologias se mostraram adequadas segundo o teste de hipótese t de *Student*, em que o t<sub>calculado</sub> foi menor que o t<sub>tabelado</sub>, indicando que as técnicas foram concordantes a um nível de confiança de 95%. Já para a determinação de arsênio, o tratamento estatístico indicou que os métodos só foram concordantes nas análises dos óleos D, G, H e I, também a um nível de confiança de 95%. Para os demais óleos, A, B, C, E, F, observou-se que as concentrações encontradas pela técnica de geração de hidretos foram menores que as obtidas pelo método de introdução direta. Uma suposta explicação é que possa ter ocorrido perda de espécies orgânicas de arsênio com baixos pontos de ebulição, durante a etapa de digestão das amostras quando os frascos são abertos. Além disso, a evaporação, etapa seguinte à decomposição, também pode ser fonte de perda do analito em questão.