



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E
ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO HG – ICP OES PARA
DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE ARSÊNIO E SELÊNIO**

ALINE IARA ZAPPELINI

**FLORIANÓPOLIS - SC
2014**

ALINE IARA ZAPPELINI

**DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO HG – ICP OES PARA
DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE ARSÊNIO E SELÊNIO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Humberto Gracher Riella

Florianópolis - SC
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Zappelini, Aline Iara

DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO HG – ICP OES PARA DETERMINAÇÃO
SIMULTÂNEA DE ARSÊNIO E SELÊNIO / Aline Iara Zappelini e; orientador,
Humberto Gracher Riella. Florianópolis – SC, 2014.

82 pg.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro
Tecnológico Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Inclui Referências

1. Engenharia Química. 2. HG- ICP OES. 3. Metais pesados.
4. Viabilização de método. 5. FG-AAS. I. Riella. Humberto Gracher. II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.
III. Título

**Desenvolvimento do método HG - ICP OES para a determinação
simultânea de Arsênio e Selênio.**

Por

Aline Iara Zappellini

Esta Dissertação foi submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química.

Florianópolis, 15 de dezembro de 2014

Prof. Dr. Humberto Gracher Riella
Orientador

Prof. Dr. Ricardo Antônio Francisco Machado
Coordenador do Programa

Banca Examinadora

Prof. Dr. Nivaldo Carabal Kuhnen

Prof^a Dr^a. Maria Ana Pignatel Marcon Martins

Prof. Dr. Márcio Antônio Fiori

*“Os vencedores nas batalhas da vida
são homens perseverantes que,
embora não acreditem que são gênios
se convenceram de que somente pela
perseverança no esforço
conseguiram a desejada finalidade”*

Ralf W. Emers

AGRADECIMENTOS

À Deus fonte de vida e sabedoria.

Ao meu orientador Prof. Dr. Humberto Gracher Riella pela orientação e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

A minha família por me apoiar e me incentivar, torcendo sempre pelo meu sucesso.

Ao diretor do IPARQUE e amigo Dr. Marcos Bach pelos imensos conselhos ao longo desse caminho.

Ao meu amigo do IPARQUE/UNESC Cleiton da Silva Pedro que estive ao meu lado nesta longa caminhada meu muito obrigado.

A minha coordenadora Maria da Glória por disponibilizar o laboratório no Iparque quando precisei.

À amiga e companheira Patrícia pela sua imensa e indispensável ajuda. Também agradeço pela sua paciência, apoio, companheirismo, sugestões, grande amizade e pela sua ajuda nas minhas dúvidas e tudo mais. A atenção especial foi minha essencial motivação.

Aos amigos muito especiais que conheci nesta trajetória e fizeram tudo valer muito mais a pena: Aline de Souza Vieira, Dianete Piva, Filipe Freitas e Francielen, Michele Rosso, Raquel Piletti. Agradeço pelas risadas, pelos bons momentos e pelo companheirismo tornando assim esses dois anos de mestrado muito mais agradáveis.

E a todas as pessoas importantes que souberam entender minha total ausência neste período em que estive distante.

RESUMO

No presente trabalho são descritas as etapas de desenvolvimento e implantação de uma rotina analítica utilizando o método gerador de hidreto (HG) com o ICP OES (Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente) para determinação de elementos arsênio (As) e selênio (Se) em amostras ambientais, a descarga de metais no meio ambiente é uma questão que vem preocupar os órgãos responsáveis pela fiscalização dos efluentes industriais antes do descarte, e por isso é uma questão importante. A contaminação dos elementos As e Se no meio ambiente ocorre por processos antropogênicos, entre os processos industriais se destacam em alto nível de poluição são: exploração de carvão, minas abandonadas e uso de herbicidas na agricultura - uma prática comum no sul de Santa Catarina, que apresenta áreas carboníferas e de farta agricultura. A presença de As e Se tornou-se uma ameaça devido a sua tendência bioacumulativa e elevada toxicidade, causando danos irreversíveis a saúde da população. A metodologia foi elaborada considerando as variáveis químicas e instrumentais existentes e um planejamento experimental foi aplicado para obter melhores resultados, com o uso de padrões certificados (NIST) e amostras de referência com a adição e recuperação de padrão. A condição encontrada como ótima para determinação multielementar foi a concentração de NaBH_4 4,5%, KI de 5,0 % e HCl 4 mol.L⁻¹ adicionado antes da análise. Para as condições instrumentais ficou definida como ideal a potência do plasma 0,8 KW, vazão do gás 18,0 L.min⁻¹ e o tempo de replicata das amostras de 15 segundos. Em uma segunda etapa do trabalho foi realizado um estudo de intercomparação de técnicas analíticas entre o método ICP OES (Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado) e FG-AAS (Espectrometria de Absorção Atômica – Forno de Grafite). Comparando as técnicas utilizadas nota-se grande vantagem para a técnica HG-ICP OES, uma vez que foram utilizados gases com purezas diferentes, resultando numa economia de 90%. Espera-se com este método desenvolvido o monitoramento dos limites exigidos nas legislações e conseqüentemente a viabilização de custos analíticos, contribuindo assim para a melhoria da qualidade ambiental.

Palavras – chave: HG-ICP OES, metais pesados, viabilização de método, FG-AAS.

ABSTRACT

In the present study we describe the development stages and implementation of a routine analytical method using the generator hydride (HG) with ICP OES (Optical Emission Spectrometry with Inductively Coupled Plasma) for determination of arsenic elements (As) and selenium (Se) in environmental samples, the discharge of metals in the environment is an issue that has concerned the bodies responsible for the supervision of industrial wastewater before disposal, and so it is an important issue. Contamination of the elements As and Se in the environment is by anthropogenic processes, between the industrial processes that stand out on the high level of pollution are coal mining, abandoned mines and use of herbicides in agriculture. Common practice in the south of Santa Catarina because it is coal areas and fed agriculture. The presence of As and Se became a threat due to its high toxicity and bioaccumulation trend, causing irreversible damage to health. The methodology was developed considering the existing chemical and instrumental variables and an experimental design was applied for best results, with the use of certified standards (NIST) and reference samples with the addition and recovery. The condition found as optimum for multielement determining the concentration of NaBH₄ was 4.5%, 5.0% KI and 4 mol L⁻¹ HCl added before analysis. For instrumental conditions was defined as the optimal plasma power 0.8 kW, gas flow 18.0 L.min⁻¹ and replicate samples of time of 15 seconds. In a second stage of the work was carried out a study of analytical techniques inter between ICP OES method (optical emission spectrometry with inductively coupled plasma) and FG-AAS (Atomic Absorption Spectrometry - Graphite Furnace). Comparing the techniques used is noted great advantage for HG-ICP OES technique, since gases have been used with different purities, resulting in a 90% savings. It is hoped that this method developed monitoring the limits required in the legislation and therefore the viability of analytical costs, thus contributing to the improvement of environmental quality.

Key - words: Hg ICP OES, heavy metals, viable method, FG-AAS.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 -	Posicionamento do capilar do amostrador automático no interior do tubo de grafite. (visualização através de um sistema de vidro incorporado no espectrômetro de absorção atômica).	34
Figura 2 -	Programa de temperaturas típico de atomização eletrotérmica: 1 - secagem, 2 - calcinação ou pirólise, 3 - atomização, 4 -limpeza.....	35
Figura 3 -	Esquema de um equipamento de GF-AAS: (1) amostrador automático, (2) capilar com amostra, (3) tubo de grafite/forno, (4) amostra, (5) fonte de radiação: lâmpada de cátodo oco, (6) potência de abastecimento do forno, (7) monocromador, (8) detector.....	36
Figura 4 -	Atomizador de câmara de grafite: (1) janela, (2) fluxo de gás interno, (3) fluxo de gás externo, (4) local de injeção da amostra, (5) contatos de grafite, (6) tubo de grafite, (7) feixe de luz.....	37
Figura 5 -	Sistema HG-ICP OES para determinação simultânea de hidretos de As e Se. Soluções utilizadas: Padrão de As e Se 1,0 ppm; HCl 4,0 mol.L e NaBH ₄ 2,5%. Configuração A.....	48
Figura 6 -	Sistema VG-ICP OES para determinação simultânea de hidretos de As e Se, empregando agente pré-redutor para As após a adição de NaBH ₄ . Soluções utilizadas: Padrão de As e Se 1,0 ppm; HCl 4,0 mol.L, NaBH ₄ 2,5% e KI 6,0%. Configuração B.....	49
Figura 7 -	Gráfico de Pareto das intensidades referentes à comparação das configurações A e B para otimização do sistema HG-ICPOES para determinação de Arsênio.....	53
Figura 8 -	Gráfico de Pareto das intensidades referentes à comparação das configurações A e B para otimização do sistema HG-ICPOES na determinação de Selênio.....	54
Figura 9 -	Gráfico das condições químicas individuais para geração de hidreto na determinação de Arsênio.....	55
Figura 10 -	Gráfico das condições químicas individuais para	

	geração de hidreto na determinação de Selênio.....	55
Figura 11 -	Gráfico das intensidades referentes à interação entre duas variáveis para geração de hidreto na determinação de Arsênio.....	56
Figura 12 -	Gráfico das intensidades referentes à interação entre duas variáveis para geração de hidreto na determinação de Selênio.....	57
Figura 13 -	Gráficos de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental 2^3 para as variáveis químicas – Arsênio, utilizando a ferramenta MATLAB.....	58
Figura 14 -	Gráfico de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental 2^3 para as variáveis químicas – Selênio, utilizando a ferramenta MATLAB.....	59
Figura 15 -	Gráfico de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental tipo estrela 2^2 para as variáveis químicas – Arsênio, utilizando a ferramenta MATLAB.....	60
Figura 16 -	Gráfico de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental tipo estrela 2^2 para as variáveis químicas – Selênio, utilizando a ferramenta MATLAB.....	61
Figura 17 -	Gráfico das intensidades referentes à comparação entre os sistemas: configuração A / configuração B ajustada para geração de hidreto na determinação de Arsênio.....	61
Figura 18 -	Gráfico das intensidades referentes à comparação entre os sistemas: configuração A / configuração B ajustada para geração de hidreto na determinação de Selênio.....	62
Figura 19 -	Gráfico de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental 2^3 para as variáveis instrumentais – Arsênio.....	63
Figura 20 -	Gráfico de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental 2^3 para Variável Instrumental – Selênio.....	64
Figura 21 -	Gráfico das intensidades referentes às condições instrumentais iniciais comparadas com o planejamento experimental ajustada para geração	

	de hidreto na determinação de Arsênio.....	65
Figura 22 -	Gráfico das intensidades referentes às condições instrumentais iniciais comparadas com o planejamento experimental ajustada para geração de hidreto na determinação de Selênio.....	65
Figura 23 -	Gráfico de Intensidade (c/s), obtida no método tradicional do ICP OES, com o padrão de 0,01 mg/L de As.....	69
Figura 24 -	Gráfico de Intensidade (c/s), obtida no método gerador de hidreto - ICP OES, com o padrão de 0,01 mg/L de As.....	69

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 -	Ocorrência do selênio em diversos materiais.....	33
Tabela 2 -	Condições iniciais para determinação simultânea de hidretos de As e Se por HG-ICP OES.....	49
Tabela 3 -	Condições Químicas utilizadas no planejamento fatorial 2^3	50
Tabela 4 -	Avaliação minuciosa do planejamento fatorial.	50
Tabela 5 -	Condições instrumentais utilizadas no planejamento fatorial 2^3	51
Tabela 6 -	Configuração do programa para determinação de Arsênio e condições instrumentais utilizadas na técnica intercomparativa FG-AAS.....	52
Tabela 7 -	Configuração do programa para determinação de selênio e condições instrumentais utilizadas na técnica intercomparativa FG-AAS.....	52
Tabela 8 -	Condições químicas otimizadas para a geração simultânea de hidretos As e Se.....	62
Tabela 9 -	Condições instrumentais otimizadas para a geração simultânea de hidretos As e Se.....	66
Tabela 10 -	Resultados obtidos nos ensaios de adição e recuperação do analito.....(0000)	67
Tabela 11 -	Intercomparação de técnicas analíticas na determinação de Arsênio.....	68
Tabela 12 -	Intercomparação de técnicas analíticas na determinação de Selênio.....	68

LISTA DE ABREVIACÕES

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente.
CCP - Acoplamento capacitivo.
CV - Geração de vapor frio.
DCP - Corrente contínua.
FG-AAS - do inglês “Flame Atomic Absorption Spectrometry”
(Espectrometria Atômica por Absorção em chama).
HG - Geração de hidretos.
KW – Quilowatt.
K – Kelvin.
IPARQUE - Parque Científico e Tecnológico.
IPAT-Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas.
ICP OES - do inglês “Inductively Coupled Plasma Optical Emission
spectrometry” (Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado
Indutivamente).
IARC - International Agency for Research on Cancer.
LD - Limite de detecção.
MS - Ministério da Saúde.
NIST - do inglês “National Institute of Standard and Technology”
SC - Santa Catarina.
UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina.
UNESC - Universidade do Extremo Sul Catarinense.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
1.1	OBJETIVOS	27
1.1.1	Objetivo Geral	27
1.2.1	Objetivos Específicos	27
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	29
2.1	QUESTÕES AMBIENTAIS	29
2.2	METAIS NO MEIO AMBIENTE	29
2.3	ARSÊNIO (AS)	30
2.3.1	Selênio (Se)	32
2.3.2	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (FG-AAS)	33
2.3.3	Vantagens e Problemas	37
2.4	ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓTICA COM FONTE DE PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP OES).	37
2.4.1	Sistema de Introdução de Amostra	38
2.5	GERAÇÃO DE HIDRETOS / INTRODUÇÃO DE AMOSTRA NA FORMA GASOSA	39
2.5.1	A Concentração do Agente Redutor	41
2.5.2	A Pre-redução de Arsênio	41
2.5.3	A Pre-redução de Selênio	42
3	PARTE EXPERIMENTAL	45
3.1	AMOSTRAS.....	45
3.2	PREPARO DE AMOSTRAS	45
3.3	MATERIAIS E REAGENTES	45
3.5	INSTRUMENTAÇÃO.....	47
3.5.1	Otimizações do Sistema HG-ICP OES	47
3.5.2	Configuração A: Sistema HG-ICP OES para determinação simultânea de hidretos de As e Se	48
3.5.3	Configuração B: Sistema HG-ICPOES para determinação simultânea de hidretos de As e Se	48
3.6	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	49
3.6.1	Variáveis Químicas	50
3.6.2	Variáveis Instrumentais	50
3.8	DESEMPENHO ANALITICO	51
3.8.1	Curva Analítica de Calibração	51
3.8.2	Adição e Recuperação de Analito	51

3.8.2.1	Intercomparação de Métodos	51
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	53
4.1	OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA HG – ICP OES	53
4.2	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	54
4.2.1	Emprego do Método Multivariado	54
4.2.1.1	Variáveis Químicas Individuais	54
4.2.1.2	Variáveis Químicas Associadas	55
4.2.1.3	Variáveis Químicas 2 ³	57
4.2.1.4	Variáveis Instrumentais	62
4.3	DESEMPENHO ANALITICO	66
4.3.1	Validação do Método Proposto	66
4.3.2	Intercomparação de Métodos Analíticos	67
5	CONCLUSÃO	71
	REFERÊNCIAS	73

1 INTRODUÇÃO

Os metais estão disponíveis em grande escala para o organismo humano, sendo a sua quantidade potencializada devido às transformações realizadas pelo homem sobre o ambiente em que vive.

A contaminação dos elementos As e Se no meio ambiente ocorre por processos antropogênicos, entre eles os que se destacam em alto nível de poluição são as exploração de carvão, minas abandonadas e uso de herbicidas na agricultura. Prática comum no sul de Santa Catarina por se tratar de áreas carboníferas e de farta agricultura. A presença de As e Se tornou-se uma ameaça devido a sua tendência bioacumulativa e elevada toxicidade, causando danos irreversíveis a saúde da população.

Para garantir que os limites dos metais estejam em valores seguros á saúde da população humana, a legislação brasileira estabelece limites máximos permissíveis desses constituintes inorgânicos em solos, sedimentos, alimentos, corpos d'água e em água potável. A portaria n° 2914 de 12 de dezembro de 2012 do Ministério da Saúde (MS) se aplica à água destinada ao consumo humano proveniente de sistema de solução alternativa de abastecimento de água e estabelece concentrações máximas de metais em água com valores de referência para outros compostos inorgânicos.

A resolução 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) classifica os corpos d'água e estabelece o padrão de lançamento de efluentes (Brasil, Resolução n°357, 2005). O CONAMA estabelece, também, os procedimentos para avaliação de sedimentos a serem dragados (Brasil, Resolução n°344, 2005). A Agência Nacional de vigilância sanitária (ANVISA) define as concentrações máximas permitidas para contaminantes químicos em alimentos (Brasil, Portaria n°685,1998).

Dentre as portarias e resoluções citadas a concentração de arsênio e selênio varia de 0,01 a 0,10 mg/L, limite ao qual não se consegue atender pelo método tradicional de espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado(ICP OES), devido a alta interferência de ruídos e a baixa sensibilidade devido a potência elevada para esses elementos.

Considerando os dados citados se justifica a realização de estudos, como realizados por este trabalho, que tem como objetivo o desenvolvimento de metodologia para quantificar os metais pesados, como o arsênio e o selênio em águas. A fim de tornar viável a análise

operacional desses elementos uma vez que estas determinações possuem um custo elevado no método tradicional de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG-AAS).

A fim de satisfazer estas necessidades, a espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado com fonte gerador de hidreto (HG-ICP OES) será utilizada por possuir boa sensibilidade, proporcionar medições precisas e exatas, com baixos limites de detecção (LDs). Uma das características que mais se destaca nesta técnica é a sua capacidade multielementar, ou seja, a capacidade simultânea de determinar diversos elementos em uma única varredura.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolvimento do método de Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado – com gerador de hidreto (HG – ICP OES) para determinação simultânea de arsênio e selênio.

1.2.1 Objetivos Específicos

Definir uma configuração para o gerador de hidreto para determinação simultânea de As e Se;

Determinar as concentrações ideais dentre a escala estudada das variáveis químicas NaBH_4 , KI e HCl para a técnica multielementar;

Definir as melhores condições instrumentais deste equipamento acoplado a técnica gerador de hidreto, visando prolongar a vida útil do equipamento;

Investigar o desempenho analítico e viabilização entre as técnicas ICP OES e FG-AAS;

Analisar a influência dos ácidos nítrico e clorídrico na determinação do sistema de gerador de hidreto.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 QUESTÕES AMBIENTAIS

O desenvolvimento de novas riquezas de um país geralmente vem acompanhado por fatores que têm uma interferência direta no bem estar da comunidade, principalmente devido à geração de subprodutos que não agregam valor comercial. Destaca-se a atividade de extração mineral como um setor que está diretamente associado a mudanças radicais no meio ambiente, principalmente devido à quantidade de resíduos que são gerados (CHAVES, 2009).

A deposição dos resíduos provenientes de uma unidade de beneficiamento constitui uma tarefa delicada, por razões econômicas e ambientais, ao se considerar os problemas relacionados ao tipo de minério. Na maioria dos casos, a maior fração do minério lavrado se torna resíduo por não possuir valor comercial precisando ser descartado da forma mais econômica possível. Com os menores impactos ambientais (CHAVES, 2009).

As atividades em geral devem explicitar os métodos de controle de poluição recomposição, recuperação e o destino posterior da área explorada. No caso do carvão, por exemplo algumas medidas estão em vigor, como a melhoria nos processos que geram um consumo menor de minérios virgens, extraídos diretamente da mina. Outras medidas são tomadas, tais como: cuidados técnicos ambientais necessários, incluindo providências em relação à recuperação da vegetação, paisagismo, levantamentos sobre a flora e fauna; reabilitação e monitoramento ambiental, estabilização de taludes e barragens, hidrogeologia, climatologia e aspectos sociais (FORGGIATTO; LIMA, 2004).

2.2 METAIS NO MEIO AMBIENTE

Nos dias atuais quase todas as atividades humanas no mundo moderno apresentam algum tipo de risco que a tornem fontes de contaminação de águas subterrâneas. Vazamento em dutos, tanques, falhas em processos industriais, problemas no tratamento de efluentes, atividade de mineração, disposição inadequada de resíduos, uso indevido de defensivos agrícolas e acidentes de transporte de substâncias químicas são as principais fontes de contaminação do solo e das águas subterrâneas (BRASIL, 2007).

"O impacto da atividade humana sobre o ambiente é hoje um

dos assuntos mais discutidos no mundo, e foi a partir da Revolução Industrial com o uso dos combustíveis fósseis, que a humanidade se transformou no principal fator de alteração geológica do planeta" (UFRGS, 2000 p.673).

Como esse aumento da atividade está intimamente associado ao crescimento da demanda energética, essa crescente necessidade de energia elétrica, faz com que maiores quantidades de combustíveis fósseis sejam explorados e consumidos, assim o carvão mineral queimado em caldeiras de usinas termelétricas mostra-se como uma forma de suprimento desta carência energética. O aumento do consumo de carvão mineral traz, contudo, problemas de ordem ambiental decorrentes da grande quantidade de cinzas geradas e principalmente da presença de pirita (FeS_2) nele contido, sendo que a oxidação desses rejeitos piritosos de carvão mineral estocados em pátios a céu aberto, e sem uma impermeabilização adequada do solo, tornam-se extremamente nocivo ao meio ambiente devido a formação da drenagem ácida, responsável pelo comprometimento da qualidade das águas subterrâneas e dos recursos hídricos locais (UFRGS, 2000, p.641).

A exploração do carvão pode afetar as concentrações de metais em todos os compartimentos do ecossistema, nos componentes biológicos que regulam os processos de decomposição, devido a uma baixa biomassa bacteriana e de fungos causados pela concentrações elevadas de metais pesados. Estão ligadas as baixas condições de pH destas áreas contribuem para a crescente solubilização de numerosos elementos-traço do substrato, particularmente metais, que são limitantes na vegetação natural ou introduzida nestes habitats (UFRGS, 2000).

2.3 ARSÊNIO (As)

O metal arsênio na crosta terrestre ocorre naturalmente na água e nos alimentos. Está presente em muitas formas químicas, principalmente como arsenito (As(III)) e arsenato (As(V)), produzindo arsina (AsH_3). A razão entre

essas duas formas depende do pH e das condições locais de oxidação ou redução, mas formas metiladas podem estar presentes como resultado da atividade biológica e antropológica, como o ácido monometilarsônio (MMAA, $\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$) produzindo o monometilarsênio (MMA, CH_3AsH_2) e o ácido dimetilarsínico (DMAA, $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$), produzindo o dimetilarsino (DMA, $(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$) (CARRERO et al., 2001, SHRAIM et al., 1999, SAMANTA et al., 1999, QUINÁIA e ROLLEMBERG, 2001).

O arsênio é introduzido no meio ambiente por processos com altas temperaturas, podendo ser por fontes naturais, como produção de semicondutores, produção de vidros e plásticos, mineração, produtos químicos. Também pode ser usado na agricultura, em formulações de herbicidas e pesticidas, favorecendo a contaminação de solos, águas e alimentos. (CARRERO et al., 2001, SHRAIM et al., 1999, SAMANTA et al., 1999, QUINÁIA e ROLLEMBERG, 2001).

A concentração de arsênio varia de 1 a $10\mu\text{g.L}^{-1}$ em águas naturais não poluídas, aumentando consideravelmente de 100 até $500\mu\text{g.L}^{-1}$ em águas próximas a minerações. O Arsênio no meio ambiente normalmente é absorvido por materiais particulados, reduzindo assim seus limites de quantificação. (MANDAL; SUZUKI, 2002).

Arsênio é um elemento potencialmente tóxico para humanos, animais e plantas. Uma vez ingerido, formas solúveis de arsênio são absorvidas a partir do trato gastrointestinal para o sangue e distribuídos para os órgãos e tecidos depois da primeira passagem pelo fígado (MANDAL et al., 2004). Mudanças na pigmentação da pele, queratoses e carcinomas podem estar associados à contaminação por arsênio (QUINÁIA e ROLLEMBERG, 2001).

Os efeitos tóxicos do arsênio estão ligados a seus estados de oxidação. Sua forma de maior poder toxicológico é arsenito As (III) Compostos de arsênio inorgânico são muito mais tóxicos do que as formas orgânicas e potencialmente acumuladas nos organismos (WELZ e SPERLING, 1999).

Exposição crônica a arsênio inorgânico pode causar diversos efeitos na saúde, incluindo: problemas respiratórios e pulmonares como bronquite, rinite, faringite e perfuração do septo nasal; cardiovasculares, como infarto no miocárdio e arritmia cardíaca; gastrointestinais, como ressecamento da boca e garganta, esofagite, gastrite, colite, azia e anorexia; hematológicos, como anemia e leucopenia; hepáticos, como cirrose e neoplasia hepática primária; renais, necrose cortical e falência renal; dérmicos, como queratose, hiperqueratose, melanose e leucomelanose; neurológicos, como dores de cabeça, letargia, confusão mental, alucinações e coma; má formação congênita de fetos e aumento

de abortos espontâneos e diabetes mellitus (MANDAL; SUZUKI, 2002).

Os compostos de arsênio têm sido avaliados pelo *International Agency for Researchon Cancer*(IARC) como grupo 1 da tabela de carcinogenicidade, ou seja, são carcinógenos para humanos(IARC, 2004).

2.3.1 Selênio (Se)

O Selênio pode ser encontrado no meio ambiente em águas, predominantemente como selenato (Se (VI)) e em menor extensão como selenito (Se (IV)). Como resultado de atividade biológica, pode também ser encontrado na forma de seleno compostos organo metilados.

O selênio é indicado como um elemento nutricional essencial em baixas concentrações, porem possui uma ambiguidade biológica, em concentrações um pouco acima possui um efeito tóxico (GALLIGNANI et al., 2000; LAFUENTE et al., 1996; FOSTER e SUMAR, 1996). Possui um papel singular como elemento traço essencial em humanos e animais (REILLY, 1993). O Se é um constituinte das enzimas glutatona peroxidase (GSHPx), a qual dispõe células de proteção contra doenças oxidativas (GALLIGNANI et al., 2000) e tioredoxinredutase (BECKER et al., 2000), além de ser um componente de numerosas seleno proteínas (KOHRLER et al, 2000, URSINI et al., 1999) e participar dos sistemas imunológico (HANSEN e DEGUCHI, 1996) e reprodutor (KLAPEC et al., 2004).

Um indicativo de intoxicação por selênio seria o hálito com odor de alho, mudanças morfológicas nas unhas e perda de cabelo, dores agudas localizadas e erupção cutânea.

A quantidade diária recomendada para humanos varia entre 55 a 75µg de Se para um adulto (HAYGARTH et al.,1994).

Tabela 1: Ocorrência do selênio em diversos materiais

Material	Se ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Crosta terrestre	0,05-0,09
Solos seleníferos	1-1200
<i>Água:</i>	
Rio	$1 \cdot 10^{-4} - 4 \cdot 10^{-4}$
Oceanos	0,09
Chuva e neve	0,04-1,40
Residuaária do petróleo	0,03 – 1,4
<i>Ar:</i>	
Atmosfera rural	10
Atmosfera urbana	0,1 - 10
Sedimentos marinhos (Pacífico)	0,05 – 0,4
<i>Combustíveis fósseis:</i>	
Carvão (USA)	0,1-1,5
Petróleo pesado	0,99

Fonte: Adaptado de Gallignani, 2000.

O selênio é encontrado em diversos alimentos (vegetais, carnes, cereais, etc) e o pequeno intervalo entre seu estado nutricional e sua alta toxicidade, tornam muito importante sua determinação.

2.3.2 Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG-AAS)

A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite também é designada de espectrometria de absorção atômica com atomização electrotérmica. Na atomização, a amostra é introduzida no forno de grafite, a qual é submetida a um aquecimento progressivo previamente programado (RIDDLE, 1993).

A escala de temperatura da câmara sobe à medida que se altera a diferença de potencial aplicada nos extremos da câmara, sendo o calor desenvolvido por efeito de Joule. A característica mais importante da atomização eletrotérmica é o fato dos átomos permanecerem no atomizador por um período relativamente longo ($\leq 1\text{s}$), tornando a técnica de maior sensibilidade do que a atomização em chama, atingindo níveis de ppb (partes por bilhão).

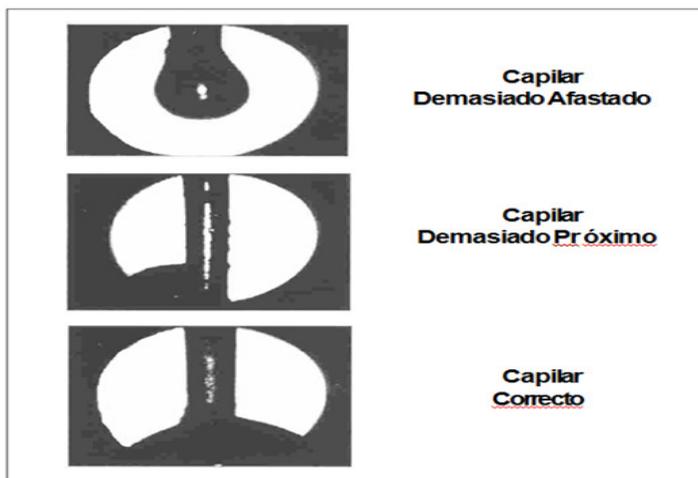
O desenvolvimento de um método de análise por absorção atômica com câmara de grafite inicia-se, habitualmente, pelo estudo do programa de temperaturas.

A quantidade de amostra introduzida no sistema varia de 1 a 100 microlitros. Esta é introduzida no tubo de grafite com o auxílio de uma micropipeta em um sistema de amostragem automático (VIETS &

O'LEARY, 1992). Os sistemas de amostragem automática também permitem maior produtividade devido à automatização das calibrações, diluições e injeções sequenciais da amostra.

A injeção da amostra no interior do tubo de grafite é uma etapa muito importante, que irá interferir na qualidade dos resultados. Se a posição do capilar no interior do tubo de grafite não for à correta (Fig. 1), a reprodutibilidade e a sensibilidade obtidas não serão as melhores (ATI UNICAM, 1995).

Figura 1: Posicionamento do capilar do amostrador automático no interior do tubo de grafite, visualização através de um sistema de vídeo incorporado no espectrômetro de absorção atômica.

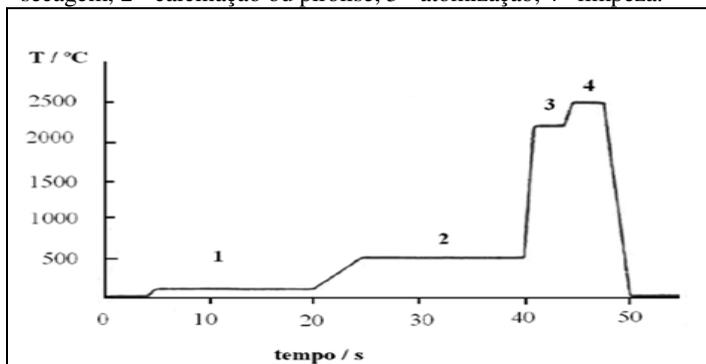


Fonte: adaptado de ATI UNICAM, 1995.

Durante o trabalho é utilizado um sistema de vídeo, que permite a monitorização em tempo real e contínuo das fases, de um modo mais rápido e seguro. O programa de temperaturas escolhido depende do elemento a analisar e da matriz da amostra.

Um programa típico compreende quatro patamares de temperatura, conforme pode ser visualizado na Figura 2.

Figura 2: Programa de temperaturas típico de atomização eletrotérmica: 1 - secagem, 2 - calcinação ou pirólise, 3 - atomização, 4 -limpeza.



Fonte: Adaptado de LAJUNEN (1992).

2.3.2.1 Programa de temperaturas

2.3.2.1.1 Secagem

A secagem da amostra é feita para a remoção do solvente. Tal é conseguido com um aquecimento a temperaturas variando de 80 a 120°C. Este aquecimento não pode ser brusco, dado que a amostra pode ser espalhada pelo tubo, com implicações diretas na diminuição de sensibilidade e reprodutibilidade dos resultados.

2.3.2.1.2 Calcinação ou pirólise

Esta fase tem como objetivo a eliminação dos componentes da matriz. Para tal, utiliza-se a temperatura de 500 a 550°C. Para se conseguir melhor sensibilidade e melhor resposta do analito, acrescenta a amostra os modificadores químicos.

2.3.2.1.3 Atomização

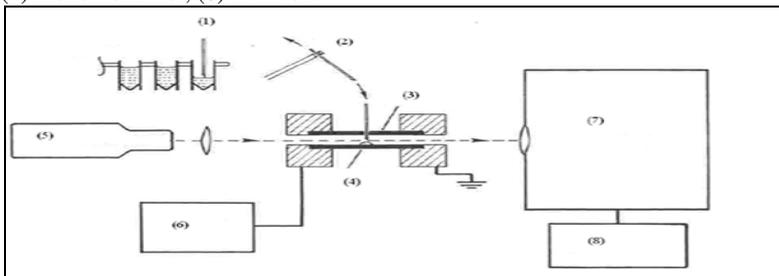
A fase da atomização é a de maior importância em termos analíticos. O tubo de grafite é levado à temperatura de atomização, que varia de 2400 a 2650 °C dependendo do analito a ser analisado. O sinal é transiente, rápido e será integrado pelo computador.

2.3.2.1.4 Limpeza

Para evitar o efeito de memória entre as amostras, aplica-se, após atomização uma temperatura de 2650°C, um pouco acima da utilizada na atomização evitando assim que restos de analito não atomizado ou óxidos difíceis de vaporizar contaminem a próxima leitura.

A instrumentação básica de um espectrômetro de absorção atômica com câmara de grafite encontra-se representada na figura 3.

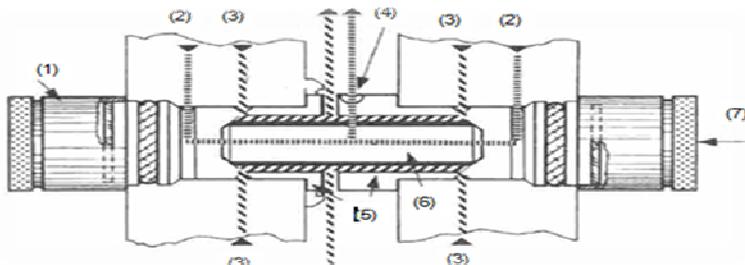
Figura 3: Esquema de um equipamento de FG-AAS: (1) amostrador automático, (2) capilar com amostra, (3) tubo de grafite/forno, (4) amostra, (5) fonte de radiação: lâmpada de cátodo oco, (6) potência de abastecimento do forno, (7) monocromador, (8) detector.



Fonte: Adaptado de RIDDLE (1993).

O atomizador de câmara de grafite encontra-se representado na figura 6, sendo composto basicamente pelos seguintes elementos: tubo de grafite, ligações elétricas, armazenamento de água fria e fluxo de gás interno e externo.

Figura 4: Atomizador de câmara de grafite: (1) janela, (2) fluxo de gás interno, (3) fluxo de gás externo, (4) local de injeção da amostra, (5) contatos de grafite, (6) tubo de grafite, (7) feixe de luz.



Fonte: Adaptado de CSUROS; CSUROS, 2002.

O sistema é revestido por um fluxo de gás argônio, que minimiza a oxidação do forno de grafite e previne a formação de óxidos metálicos. O fluxo de gás também purga os vapores gerados pela matriz das amostras (VIETS & O'LEARY, 1992; CSUROS; CSUROS, 2002).

2.3.3 Vantagens e problemas

A seguir as vantagens e os problemas mais comuns associados ao método de FG-AAS (RIDDLE, 1993; CANTO MACHADO, 1994; TYLER, 1995; CSUROS; CSUROS, 2002).

Vantagens:

- Permite a determinação de todos os elementos, com concentrações de $\mu\text{g/L}$;
- Limites de detecção em partes por bilhão;
- Utilização de volumes mínimos de amostra.

Problemas:

- Interferências de matriz;
- Interferências de background;
- Gama de concentração de trabalho muito restrita;

2.4 ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓTICA COM FONTE DE PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP OES)

Em 1961, Reed descreveu uma tocha de quartzo constituída por

três tubos concêntricos, a qual era introduzida em uma espiral de cobre, para a formação do plasma. Posteriormente esta tocha foi adaptada para fins analíticos onde a solução da amostra era introduzida na forma de aerossol (GREENFIELD, 1964; WENDT; FASSEL, 1965). A partir disso, a utilização de fonte de plasma à espectrometria foi progressiva com a fabricação de equipamentos usando fonte de plasma com acoplamento indutivo (ICP), com corrente contínua (DCP), com acoplamento capacitivo (CCP) e induzido por microondas (MIP). O ICP, foi o mais bem sucedido quando usado com a espectrometria de emissão ótica e com a espectrometria de massa (GINÉ, 1998).

O ICP é uma fonte efetiva para emissão de radiação luminosa (emissão atômica) que pode ser utilizada para a determinação de todos os elementos com energia de excitação menor que o gás que suporta o plasma, o argônio (THOMPSON; WALSH, 1983). O ICP é atualmente o mais usado para fins analíticos por causa de algumas propriedades características, dentre elas podemos citar uma manutenção menos freqüente e boas sensibilidades analíticas (HILL, 1999).

O princípio físico da formação de um campo magnético a partir de corrente elétrica que circula por um espiral tipo solenóide é utilizado para a formação do plasma. A fonte de radiofrequência fornece corrente elétrica que circula pelas espirais da bobina, induzindo um campo magnético oscilante com linhas de forças orientadas axialmente dentro do tubo, formando elipses fechadas (LEMES, 2001). O campo magnético induzido acelera os elétrons, os quais fluem em trajetórias anulares dentro da tocha produzindo ionização por colisão. Após a ionização, um plasma em forma de chama forma-se perto do topo da tocha (OLIVEIRA, 1998).

Os plasmas atingem temperaturas de até 10000 K. As temperaturas conseguidas no plasma facilitam a dissociação das moléculas e radicais, diminuindo espectros de banda e reduzindo efeitos de matriz.

2.4.1 Sistema de introdução de amostra

O sistema de introdução de amostras tem como principal função transferir de maneira representativa uma porção da amostra até o atomizador (plasma) (BROWNER e BOORN, 1984a).

As amostras podem ser introduzidas nas formas sólida (ablação por laser), vaporização (vapor frio ou geração de hidretos) ou líquida (aerossol) (GUINÉ- ROSIAS, 1998).

A maneira mais comum de introdução de amostra é na forma de um aerossol, que é produzido pela passagem da amostra líquida através de um nebulizador (BROWNER e BOORN, 1984a, 1984b; GAINES, 2005).

O aerossol é gerado pela interação entre a corrente líquida da amostra e uma corrente de gás a alta velocidade. Depois de formado, o aerossol passa pela câmara de nebulização, que vai selecionar as menores gotículas, e em seguida vai para o plasma. Embora esse sistema de introdução de amostras seja o mais utilizado, apresenta uma baixa eficiência de transporte, pois somente entre 1 a 2% da amostra chegam ao plasma (HILL, 2007).

2.5 GERAÇÃO DE HIDRETOS / INTRODUÇÃO DE AMOSTRA NA FORMA GASOSA

Uma alternativa é a transformação da espécie de interesse em um composto volátil, através do método de geração de hidretos e/ou de geração de vapor de uma espécie.

Sendo uma técnica extremamente seletiva e sensível quando correlacionadas a técnica comum (PRETORIUS et al, 1992) devido à alta eficiência de transporte do analito para a tocha, resultando em limites de detecção baixos e reduzindo as interferências espectrais (CENTINEO et al., 2000 e ROJAS et al., 2003).

A geração de vapor químico é um método onde a mistura da amostra com o agente redutor gera o hidreto gasoso. No caso de ICP OES, a formação das espécies gasosas, são arrastados ao plasma por uma corrente de argônio (HILL, 2007). As espécies gasosas podem ser produzidas por geração de vapor frio (CV) ou geração de hidretos (HG).

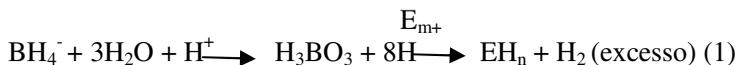
A determinação por geração de hidretos é dividida em três partes: a confluência dos gases formando o hidreto volátil, o arraste até o nebulizador (separação das fases gás-líquido) e a atomização.

Na geração de hidretos para o As e Se, entre outros, formam hidretos voláteis a partir da reação com agentes redutores, sendo o mais usado NaBH_4 (tetraborato de sódio) (DEDINA e TSALEV, 1995; HILL, 2007).

O uso de soluções redutoras de NaBH_4 , estabilizadas em meio alcalino é baseada na produção de hidrogênio, a partir da reação de borohidreto (BH_4^-) com um ácido, sendo o ácido clorídrico (HCl) o mais frequentemente usado. (BRAMAN; FOREBACK (1973). A

decomposição do BH_4^- em meio ácido é muito rápida, da ordem de $\alpha.L$ (DEDINA e TSALEV, 1995), o que resultará na rápida redução do analito contido na solução da amostra.

A equação simplificada (LAKOTA et al., 1999) do processo é:



MENEGÁRIO e colaboradores (2000), observaram que depois de 3 horas, os sinais de As e Se diminuíram aproximadamente 5,0 e 3,5% respectivamente e esse decréscimo é atribuído à desestabilização da solução de NaBH_4 . Para que isso não ocorra, o tetraborato deve ser preparado em meio alcalino (NaOH), atuando este como agente estabilizante da solução, evitando sua rápida decomposição (LEE e CHOI, 1996). Por outro lado, o uso de NaOH na solução de NaBH_4 deve ser controlado, uma vez que pode afetar os sinais analíticos dos elementos (FENG et al., 1998b).

Segundo SMICHOWSKI e colaboradores a concentração de NaBH_4 na solução varia de 0,25% (m/v) a 10% (m/v) e a de NaOH de 0,1 a 2,0% (m/v) (STURGEON e MESTER, 2002), dependendo da grandeza de elementos que se deseja formar hidreto, da matriz da amostra, da fonte de excitação e do separador gás-líquido. No entanto, 1% (m/v) tem sido a concentração de NaBH_4 mais empregada (FENG et al., 1998b, PRETORIUS et al., 1992).

Para a determinação simultânea de As, Sb e Se pelo método da geração de hidretos combinada com a espectrometria de absorção molecular com fase gasosa (GPMAS) (PINILLOS et al., 1995), recomendam a concentração de 4% de NaBH_4 e HCl 0,5 mol L^{-1} . Concentrações mais elevadas resultaram em decréscimos nos sinais de absorbância para SeH_2 , que os autores atribuíram à grande produção de H_2 .

RIBEIRO e colaboradores (2004) deduziram que para obter melhores e mais baixas sensibilidades para As, Sb, Se, Sn e Hg em meio HCl 8,5% (m/v), a utilização de 1% (m/v) de NaBH_4 é mais indicado.

Diversos estudos foram feitos quanto à otimização da concentração de NaBH_4 para a geração de hidretos (RIBEIRO et al., 2004, PINILLOS et al., 1995, TAO e STURGEON, 1999 e CADORE e BACCAN, 1997) e todos comprovam que altas concentrações do agente redutor, apesar de aumentar o sinal do analito,

tornam a reação mais turbulenta, devido à grande produção de H_2 , resultando em uma pobre reprodutibilidade da análise e altos valores de branco analítico.

2.5.1 A CONCENTRAÇÃO DO AGENTE REDUTOR

Sabe-se que arsênio e selênio existem em solução em dois estados de oxidação, mas infelizmente a redução com $NaBH_4$ não é eficiente para esses metais em seus estados mais oxidativos, pois têm dificuldade em gerar hidretos (BOWMAN et al., 1997; HALICZ e RUSSELL, 1986). Por esse motivo, uma variedade de procedimentos para a digestão de amostras é descritas na literatura como sendo satisfatórios, pois todos eles levam os analitos a seus estados de oxidação mais altos, tornando difíceis determinações simultâneas de selênio e arsênio por geração de hidretos (OLIVEIRA et al., 1983).

Para que ocorra com sucesso a formação do hidreto gasoso a partir da reação de redução com $NaBH_4$, é necessário a utilização previa do agente pré-redutor para total conversão desses analitos.

2.5.2 A PRE-REDUÇÃO DE ARSÊNIO

No que diz respeito ao processo de geração de hidretos, o arsênio trivalente reage mais facilmente do que o pentavalente com o $NaBH_4$. O arsênio (V) deve ser previamente convertido a arsênio (III) utilizando-se um redutor apropriado (COELHO et al., 2002; FENG et al., 1994), que deve ser capaz de promover a completa pré-redução do arsênio (V) a arsênio (III).

O Iodeto de potássio (KI) é utilizado como agente redutor onde se tem utilizado a presença do ácido ascórbico (COELHO et al., 2002). Porém, um alto tempo é necessário para a completa reação de pré-redução em temperatura ambiente. Uma alternativa é o uso de ligantes contendo o grupo tiol, como a L-cisteína como agente pré-redutor, pois permitem que a redução aconteça sob condições ácidas moderadas (CARRERO et al., 2001; SHRAIM et al., 1999).

Alguns organoarsênicos (ex. AsB) mostram uma extraordinária estabilidade química (RINGMANN et al., 2002), nesses compostos o As está ligado ao carbono, o que impede a geração de hidretos voláteis. Para que possa transformar o arsênio dessas espécies em arsênio livre para a fácil obtenção de hidretos voláteis é necessário fazer à quebra da ligação C-As na estrutura, e para isso a eficiência do preparo de amostra

é de extrema importância para a determinação sucinta de arsênio nas amostras.

Muitos métodos são utilizados para decomposição e abertura nas das amostras como: oxidação via chapa aquecedora, foto-oxidação e por radiação microondas (VILLA-LOJO et al., 2002).

A pré-redução de As (V) a As (III) é realizada com o uso de composto com menor potencial redox, o mais indicado segundo NYGAARD, é o uso do iodeto de potássio ou por combinação iodeto com ácido ascórbico (RINGMANN et al., 2002; CAVA- MONTESINOS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 1983)

A reação redox de As(V) a As (III) pelo iodeto é demonstrada pela equação 1.



Para determinações simultâneas de elementos que formam hidretos, a análise mais empregada tem sido a de fluxo, permitindo que os hidretos sejam gerados em escalas lineares. Porém, devem-se tomar cuidados com o uso do KI usado para a pré-redução de As(V) a As (III) que pode também atuar como interferente na determinação de selênio, reduzindo-o de Se (IV) a Se (0), a partir do qual nenhum hidreto é formado.

Para eliminar esse problema, NYGAARD e colaboradores (1982) testaram uma configuração no qual o KI entra em confluência somente depois da adição de NaBH_4 , não permitindo assim que o hidreto de Se seja reduzido a Se (0) e ocorre com sucesso a redução de As(V) ao estado de oxidação (III) no qual seus hidretos são formados.

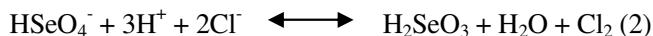
Estudos foram realizados por MORROW e colaboradores (1997) em concentração de KI em meio HCl 6 mol L^{-1} sobre a intensidade de emissão de alguns elementos e observaram que para As e Se, a intensidade foi menor do que a obtida em baixas concentrações e então os autores escolheram a concentração de 7,5%(m/v).

2.5.3 A PRE-REDUÇÃO DE SELÊNIO

Os agentes pré-redutores indicados para a redução de Se (VI) para Se (IV), geralmente são os que apresentam potencial redox próximo ao do analito em questão, porém os que apresentaram melhores resultados na literatura foi o HCl, HBr, uma mistura de HCl:HBr (10% (v/v)) (1:1). (GALLIGNANI et al., 2000).

No entanto, grande preferência tem sido dada ao HCl, uma vez que, além de atuar como excelente pré-reduzidor, ele é frequentemente utilizado como meio reacional para a geração de hidretos de modo geral.

A reação redox de Se (VI) a Se (IV) pelo cloreto pode ser descrita pela equação 2.



KRIVAN e colaboradores (1985) concluíram que 97% do selênio permanece como Se (VI) em HCl 5 mol L⁻¹ a 25°C. Isso significa que a reação é endotérmica da esquerda para a direita à temperatura ambiente e que o equilíbrio da reação pode ser deslocado para a direita pelo aumento da temperatura. Os autores encontraram recuperações reprodutíveis de 97± 1% de Se (IV) com apenas 15 min de aquecimento em banho-maria a 100°C.

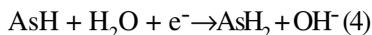
É fundamental o controle de temperatura nesse processo de digestão de amostra, pois o selênio apresenta fácil volatilização em altas temperaturas. Essas perdas são atribuídas à volatilização de cloretos de selênio e à re-oxidação de Se (IV) a Se (VI) quando altas concentrações de HCl são usadas (DEDINA e TSALEV, 1995), formando Cl₂ em larga quantidade na reação entre HCl e H₂O₂.

Mecanismo de reação das análises

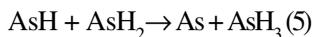
A estrutura de formação de hidretos foi estudado por Salzberget al. (1960). Para a obtenção da arsina, concluíram que moléculas de água são reduzidas a hidrogênio que se liga quimicamente ao arsênio elementar formando um hidreto covalente:



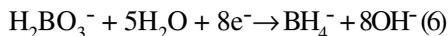
Um segundo passo envolveria uma reação eletroquímica análoga ao (3):



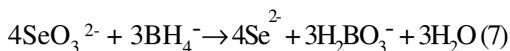
Então, a arsina é formada através do desproporcionamento entre um AsH e um AsH₂:



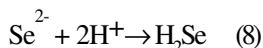
Wickstrom et al. (1991), informaram que a geração de H_2Se ocorre na presença de uma solução alcalina e corroboraram uma estrutura para a sua formação. Em solução aquosa e alcalina, borohidreto é um redutor forte:



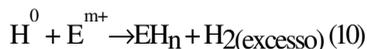
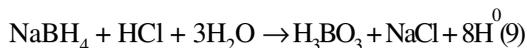
E o composto formado de selênio, é reduzido ao ânion correspondente,



Seguido pela protonação do Se^{2-} por acidificação da solução formada:



Outra reação química bastante usada e simples, citada por Moretto (2001), para a formação dos hidretos é:



onde EH é o hidreto formado com As e Se e m pode ou não pode ser igual a n .

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 AMOSTRAS

As amostras de efluentes tratados para descarte utilizadas neste trabalho foram coletadas entre os meses de agosto a novembro de 2014, na estação de tratamento de efluentes da Empresa Carbonífera Metropolitana S.A, que esta localizada no município de Treviso, SC.

As amostras foram coletadas 30 cm abaixo da lâmina de água na subestação de tratamento, utilizando frasco de polietileno previamente limpo, contendo 2% de HCl 37% para manter o pH do efluente abaixo de 2,0 para conservação dos metais. Conforme procedimento de amostragem descrito no manual Apha (1998).

As amostras foram armazenadas em temperaturas ambientes até o momento de sua utilização.

3.2 PREPARO DE AMOSTRAS

As amostras foram pipetadas para um béquer com pipetas volumétricas de 100 ml e acidificadas com 5 ml de ácido clorídrico p.a da marca merck. Em seguida, foram levadas à chapa de aquecimento à temperatura de 80°C para a solubilização dos elementos de interesse e eliminação da matéria orgânica, evaporadas com o intuito de se reduzir o volume para 50 ml. Após o resfriamento, a solução foi filtrada em papel faixa branca e armazenada em balão volumétrico de 100 ml.

O mesmo procedimento foi aplicado para o preparo de todos os padrões de adição e recuperação do analito.

Para todas as amostras analisadas foram realizadas “prova em branco”, processada nas mesmas condições das amostras.

Todos os ensaios foram realizados em duplicatas.

3.3 MATERIAIS E REAGENTES

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico (merck e vetec) e água ultra pura.

Borohidreto de Sódio (NaBH_4)

As soluções de Borohidreto de Sódio foram preparadas a cada ensaio com NaOH 1,0% – (marca Vetec) a partir do NaBH_4 97% (marca

merck), utilizado como reagente redutor que estabilizado em meio alcalino produz hidrogênio, a partir da reação de borohidreto com ácido clorídrico.

Padrões de Arsênio (As) e Selênio (Se)

Os padrões de referências de Arsênio (As) e Selênio (Se) são de concentração de 1000 ppm da marca specsol com registro de rastreabilidade da NIST. Os padrões foram diluídos em HCl 2% e água ultrapura para se obter soluções de concentração de 1,0ppm, 0,5ppm, 0,25ppm, 0,10ppm, 0,05ppm e 0,01 ppm, utilizados para traçar a curva de calibração e otimização no sistema de trabalho.

Ácido Clorídrico (HCl)

Ácido Clorídrico 37,0% - HCl – Ácido concentrado da marca Synth foi utilizado em solução de concentração 6,0mol/L no processo de acidificação e digestão de amostra. O mesmo foi utilizado em concentração variando 2,5 a 6,0mol/L como agente pré-redutor para o selênio na determinação simultânea.

Iodeto de Potássio (KI)

As concentrações de Iodeto de Potássio variaram de 4,0 a 8,0% em soluções a partir do sal (98,0%) da marca Synth, utilizado como agente pré-redutor de arsênio na determinação simultânea.

Todos os materiais utilizados nestes experimentos passaram por um banho de imersão no ácido nítrico por 12 horas, conforme orientação da rede metrológica do Rio Grande do Sul. Após este período foi realizada a lavagem com água deionizada abundantemente.

3.5 INSTRUMENTAÇÃO

Foi utilizado para o desenvolvimento da técnica analítica de determinação de arsênio e selênio por geração de hidretos a técnica de Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado HG-ICP OES com vista axial da Agilent (Mulgrave, Austrália), equipado com nebulizador concêntrico e câmara de nebulização tipo ciclone.

Sua faixa de trabalho varia de 168 nm a 785 nm. No sistema foi

utilizado o gás argônio (White Martins) tipo comercial, sendo necessária a utilização de um filtro para purificação do mesmo.

Foram utilizados dois comprimentos de onda de maior emissão ótica e com menor número de interferências espectrais. As linhas utilizadas foram; 188,980 / 193,696 nm para As e 196,026 / 203,985 nm para Se.

O objetivo de seguir os estudos com dois comprimentos de onda para cada analito é devido às características variadas encontradas com amostras de efluentes industriais nas suas mais diversas contaminações.

Utilizou-se na intercomparação da técnica o Espectrofotômetro de absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite – FG-AAS, modelo AA240 Zeeman da Varian (Mulgrave, Austrália) equipado com amostrador automático acoplado, lâmpadas de cátodo ôco com corrente de 10 mA para ambos os elementos. Foi utilizado para esta técnica os comprimentos de onda 193,7 nm e 196,0 nm para As e Se respectivamente.

O trabalho foi desenvolvido na Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, no Setor IPARQUE/IPAT - Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas, localizado na cidade de Criciúma, SC. A Instituição atua como prestadora de serviço atendendo diversas regiões de SC, sendo de grande importância o sistema proposto para determinação simultânea de As e Se para monitoramento de efluentes industriais atendendo os limites das normativas em vigor para os elementos em questão.

3.5.1 Otimizações do Sistema HG-ICP OES

Para o desenvolvimento da técnica analítica foram estudados vários parâmetros de forma individual, testando a intensidade obtida com a utilização de um padrão multielementar de As e Se de concentração de 0,1 ppm.

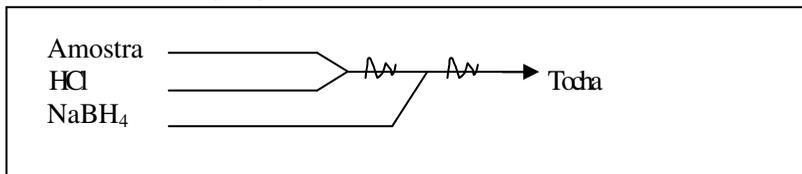
Foram testados com bases nas referências duas configurações para a determinação simultânea de hidretos de As e Se por ICP OES a fim de se obter as maiores intensidades para cada analito.

3.5.2 Configuração A: Sistema HG - ICP OES para determinação simultânea de hidretos de As e Se.

Na configuração A, ilustrada na figura 5, a amostra, o HCl e o NaBH₄ são bombeados através da bomba peristáltica continuamente. Na primeira confluência ocorre a mistura entre a amostra e o HCl. Após a

acidificação da amostra, a mesma recebe NaBH_4 , onde ocorre a redução dos elementos gerando os hidretos e H_2 . A mistura é direcionada ao separador gás-liquido, onde o hidreto (gás) é transportado até a tocha para sua avaliação.

Figura 5: Sistema HG-ICP OES para determinação simultânea de hidretos de As e Se. Soluções utilizadas: Padrão de As e Se 1,0 ppm; HCl 4,0 mol.L e NaBH_4 2,5%. Configuração A.



Fonte: autora, 2014.

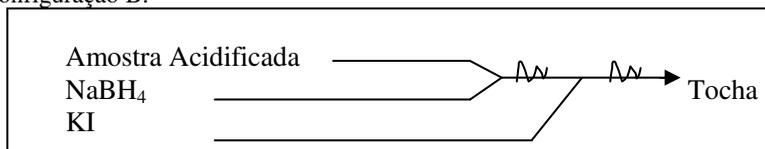
3.5.3 Configuração B: Sistema VG-ICPOES para determinação simultânea de hidretos de As e Se.

Com o intuito de melhorar o desenvolvimento do método para determinação simultânea foi acrescentado no sistema um agente pré-reduzidor, o iodeto de potássio (KI), para redução de As (V) a As (III).

Para a configuração B a amostra é apresentada ao sistema já acidificada com $4,0 \text{ mol.L}^{-1}$ de HCl, realizando assim a redução de Se (VI) a Se (IV).

Na primeira confluência ocorre a adição de NaBH_4 , gerando o hidreto de selênio. Na segunda confluência é acrescentado o KI para redução de As. A mistura é direcionada ao separador gás - líquido.

Figura 6: Sistema VG-ICP OES para determinação simultânea de hidretos de As e Se, empregando agente pré-redutor para As após a adição de NaBH_4 . Soluções utilizadas: Padrão de As e Se 1,0 ppm; HCl 4,0 mol.L, NaBH_4 2,5% e KI 6,0%. Configuração B.



Fonte: autora, 2014.

Com o objetivo de testar a melhor configuração de trabalho com maior intensidade para ambos os elementos utilizou-se inicialmente às condições instrumentais intermediárias das variações.

Tabela 02- Condições iniciais para determinação simultânea de hidretos de As e Se por HG-ICP OES

Condições Iniciais do ICP OES	
Potência	0,8 kW
Vazão do gás	18.5 L.min ⁻¹
Tempo de replicata das amostras	15 segundos
Amostra e Reagentes	
Padrão Multielementar As e Se	1.0 ppm
Solução NaBH_4	2,5 % em NaOH 0,1 Mol.L ⁻¹
Solução HCl	4,0 mol. L ⁻¹
Solução de KI	6,0 %
Condições do Fluxo	
Vazão Amostra	6,0 mL.min ⁻¹
Vazão dos Reagentes	2,0 mL.min ⁻¹
Vazão de Limpeza	35 rpm
Comprimento λ	As = 188,98 / 193,69 Se = 196,02 / 203,98

Fonte: autora, 2014.

3.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Após estudos das configurações A e B, foi realizado um planejamento fatorial para a otimização das melhores condições químicas (concentrações de HCl , NaBH_4 e KI) e instrumentais

(potência de RF do plasma, Vazão do gás e Tempo de replicata).

O planejamento experimental foi realizado com dois fatores (químicos e instrumentais), três pontos centrais em três replicadas (Planejamento experimental 2^k), gerando um total de 21 experimentos para cada ensaio.

3.6.1 Variáveis Químicas

Com base nas referências citadas nota-se uma ampla variação das concentrações químicas indicadas para a geração de hidreto. Sendo assim, definiu-se um intervalo mais amplo para este estudo, conforme tabela 03.

Tabela 03 - Condições químicas utilizadas no planejamento fatorial 2³.

Variáveis	Menor	Maior
NaBH₄	0,5%	4,5%
HCl	2,5 mol.L ⁻¹	6,0 mol.L ⁻¹
KI	4,0 %	8,0%

Fonte: autora, 2014.

Após definir as melhores condições de trabalho, um novo planejamento experimental minucioso foi empregado com o objetivo de detalhamento das concentrações. Foram produzidos 25 experimentos realizados em triplicata num total de 75 experimentos.

Tabela 04 – Concentrações químicas de NaBH₄ e KI utilizadas no planejamento detalhado.

Variáveis	Concentrações - %				
NaBH₄	0,5	1,5	2,5	3,5	4,5
KI	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0

Fonte: autora, 2014.

3.6.2 Variáveis Instrumentais

Nas condições instrumentais do ICP OES as variáveis com influência direta na intensidade dos elementos que formam hidretos são causadas por variações na potência de radio frequência (RF) do plasma, vazão do gás de entrada e tempo de replicata das amostras. As condições instrumentais utilizadas no planejamento fatorial com seus respectivos limites estão apresentadas na tabela 05.

Tabela 05 – Condições instrumentais utilizadas no planejamento fatorial 2³.

Variáveis	Menor	Maior
Potência	0,7 kW	0,9 kW
Vazão do Plasma	15,0 L.min ⁻¹	22,5 L.min ⁻¹
Tempo de Leitura	10 s	20 s

Fonte: autora, 2014.

3.8 DESEMPENHO ANALITICO

3.8.1 Curva Analítica de Calibração.

Na construção da curva analítica de calibração foram utilizadas soluções de concentração de 0,01 a 1,0 ppm num total de 6 pontos para se traçar a reta e realizar os cálculos de coeficiência de correlação e desvio padrão. As soluções foram preparadas a partir da diluição do padrão de 1000 ppm dos elementos e acidificadas com HCl para uma solução final com 2% de ácido.

3.8.2 Adição e Recuperação de Analito.

Foram utilizadas para validar a veracidade do método de gerador de hidretos por ICP OES proposto neste trabalho, ensaios de adição e recuperação do padrão na amostra, devido à ausência de material certificado a fim de comprovar a qualidade dos resultados obtidos.

Foi utilizado também a intercomparação com a técnica de espectrometria de absorção atômica – forno de grafite (FG-AAS).

3.8.2.1 Intercomparação de Métodos

Com o objetivo de avaliar a exatidão e precisão do método a intercomparação entre as duas técnicas foram realizadas através de ensaios em triplicatas utilizando-se amostras digeridas em meio ácido com adição de padrão de referência. Abaixo segue as configurações utilizadas no método FG-AAS para determinação monoelementar de As e Se.

Tabela 06 – Configuração do programa FG-AAS, para determinação de Arsênio e rampa de aquecimento utilizadas na técnica intercomparativa.

Condições Instrumentais			
Elemento	Arsênio		
Comprimento da lâmpada	12,0 mA		
Comprimento de onda	193,7 nm		
Gás de arraste	Argônio		
Fluxo de gás argônio	200 mL.min ⁻¹		
Modificador de níquel	50,0 mg.L ⁻¹		
Volume de amostra	20,0 µL		
Volume de modificador	5,0 µL		
Corrente background	Ligada		
Rampa de Aquecimento			
Patamares	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)	Tempo (s)
Secagem	85	150	95,0
Calcinação	1400	1400	15,0
Atomização	2600	2600	6,0
Limpeza	2800	2800	3,0

Fonte: autora, 2014.

Tabela 07 – Configuração do programa FG-AAS, para determinação de selênio e rampa de aquecimento utilizadas na técnica intercomparativa.

Condições Instrumentais			
Elemento	Selênio		
Comprimento da lâmpada	12,0 mA		
Comprimento de onda	196,0 nm		
Gás de arraste	Argônio		
Fluxo de gás argônio	200 mL.min ⁻¹		
Modificador de níquel	50,0 mg/L		
Volume de amostra	40,0 µL		
Volume de modificador	5,0 µL		
Corrente background	Ligada		
Patamares	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)	Tempo (s)
Secagem	85	150	90,0
Calcinação	1000	1000	9,0
Atomização	2600	2600	4,5
Limpeza	2800	2800	2,0

Fonte: autora, 2014.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

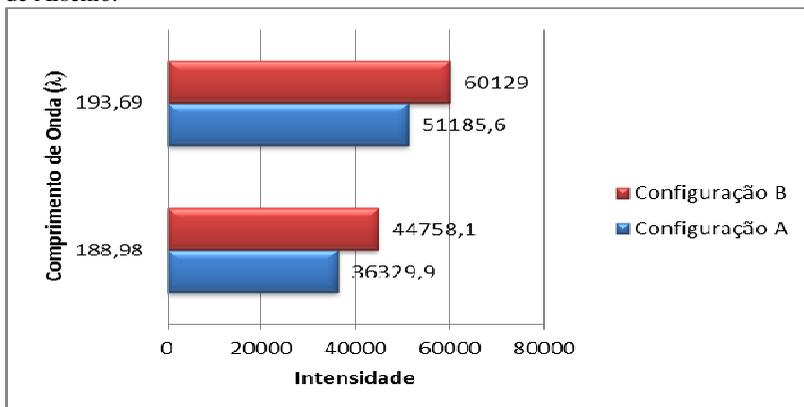
4.1 OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA HG-ICP OES

As condições experimentais do HG-ICP OES para determinação multivariada de Arsênio e Selênio, vêm sendo estudadas por diversos autores. Entretanto, devido a uma variedade de configurações e condições é difícil obter-se uma descrição clara de como estes fatores influenciam a sensibilidade de medidas (BARRA et al 2000). A concentração de NaBH_4 deve ser otimizada para o elemento de interesse, bem como o equipamento (TAKASE et al, 2002).

As configurações A e B testadas foram desenvolvidas com o intuito de avaliar o comportamento de resposta de HG-ICP OES. As condições de trabalho dos testes estão apresentadas na tabela 03, e foram inicialmente fixadas baseando-se na literatura.

Analisando as intensidades individuais para cada elemento observa-se que para o Arsênio a configuração B, onde existe o agente redutor KI, apresentou melhor desempenho analítico, justificando-se a importância da utilização do reagente KI para redução de As (V) para As (III).

Figura 7: Gráfico de Pareto das intensidades (c/s) referentes à comparação das configurações A e B para otimização do sistema HG-ICPOES para determinação de Arsênio.

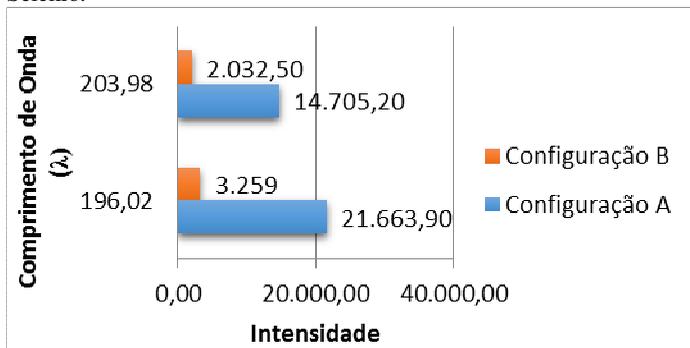


Fonte: autora, 2014.

Porém, conforme mostrado na figura 8, percebe-se que a configuração A apresentou melhor resultado para a determinação de selênio, uma vez que o iodeto de potássio nesta concentração pode estar

interferindo e reduzindo o selênio (IV) para (0) não permitindo a formação de gerador de hidreto.

Figura 8: Gráfico de pareto das intensidades (c/s) referentes à comparação das configurações A e B para otimização do sistema HG-ICPOES na determinação de Selênio.



Fonte: autora, 2014.

Com o objetivo de realizar a determinação simultânea dos elementos As e Se serão apresentado posteriormente estudos mas detalhados em relação à configuração B.

4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

4.2.1 Emprego do Método Multivariado

No Sistema HG-ICPOES as variáveis envolvidas foram estudadas com o objetivo de otimização multivariada a partir do planejamento fatorial completo (Massart, 2003; Barros Neto et al, 2002), com o intuito de resolver sistemas de respostas complexas, nas quais as variáveis podem depender umas das outras. Neste planejamento, o número de experimentos (N) é calculado através da expressão: $N=2^K$, onde o K é o número de variáveis (químicas e instrumentais) que afetam a geração de hidretos.

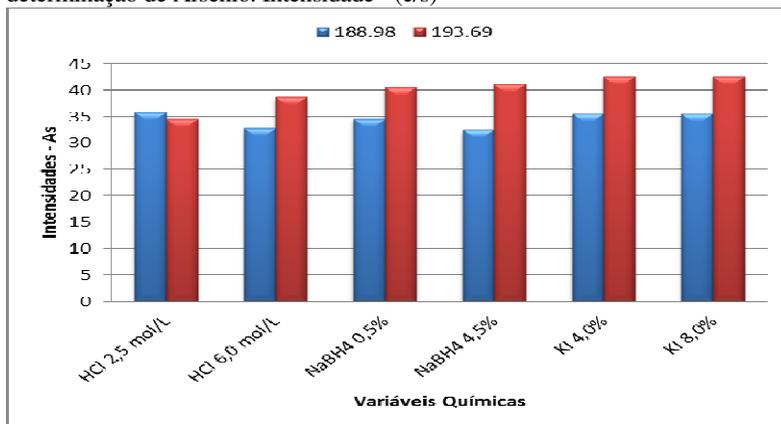
4.2.1.1 Variáveis Químicas Individuais

Realizou-se um estudo de variável independente, para poder avaliar os efeitos positivos de cada solução.

Com base nos resultados nota-se que nenhuma variável independente apresentou efeito significativo para os analitos. Confirmando

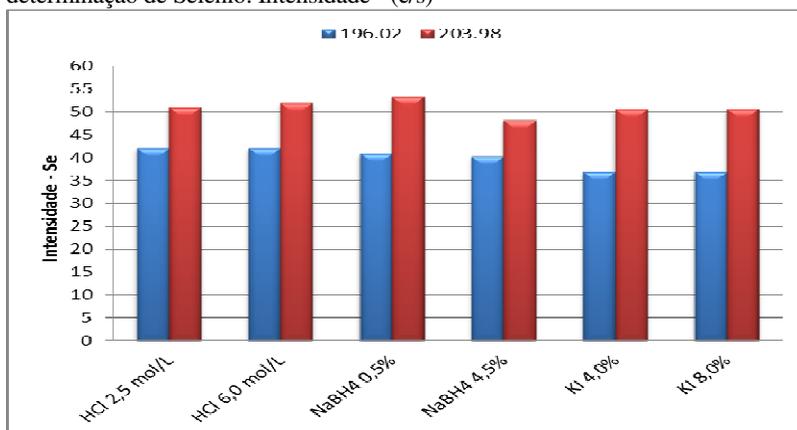
a necessidade da interação entre elas.

Figura 9: Gráfico das condições químicas individuais para geração de hidreto na determinação de Arsênio. Intensidade - (c/s)



Fonte: autora, 2014.

Figura 10: Gráfico das condições químicas individuais para geração de hidreto na determinação de Selênio. Intensidade - (c/s)



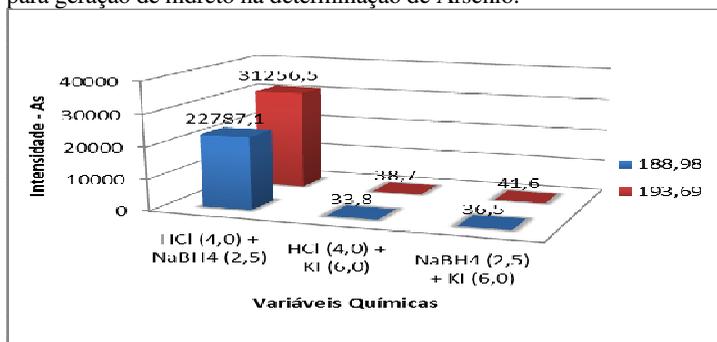
Fonte: autora, 2014.

4.2.1.2 Variáveis Químicas Associadas

A fim de confirmar a interação entre as variáveis químicas, foram reagidos três pares com duas variáveis, para testar suas afinidades e consequentemente encontrar o melhor resultado.

Na interação entre as variáveis NaBH_4 e HCl , conforme figura 11 e 12 nota-se um efeito significativo para ambos os elementos, pois sabe-se que para a reação de NaBH_4 para gerar hidretos e consequentemente H_2 requer a presença de um ácido.

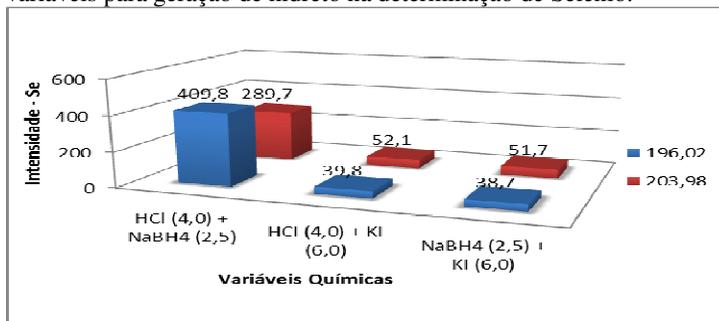
Figura 11: Gráfico das intensidades (c/s) referentes à interação entre duas variáveis para geração de hidreto na determinação de Arsênio.



Fonte: autora, 2014.

Observa-se ainda que a interação entre as variáveis KI e NaBH_4 , tanto para As e Se apresentou resultado negativo, pois comparando-os com a interação de HCl e KI, onde não houve a geração de hidreto, percebe-se resultados similares, confirmando a necessidade do meio acidificado para que a reação ocorra.

Figura 12: Gráfico das intensidades (c/s) referentes à interação entre duas variáveis para geração de hidreto na determinação de Selênio.



Fonte: autora, 2014.

4.2.1.3 Variáveis Químicas 2³

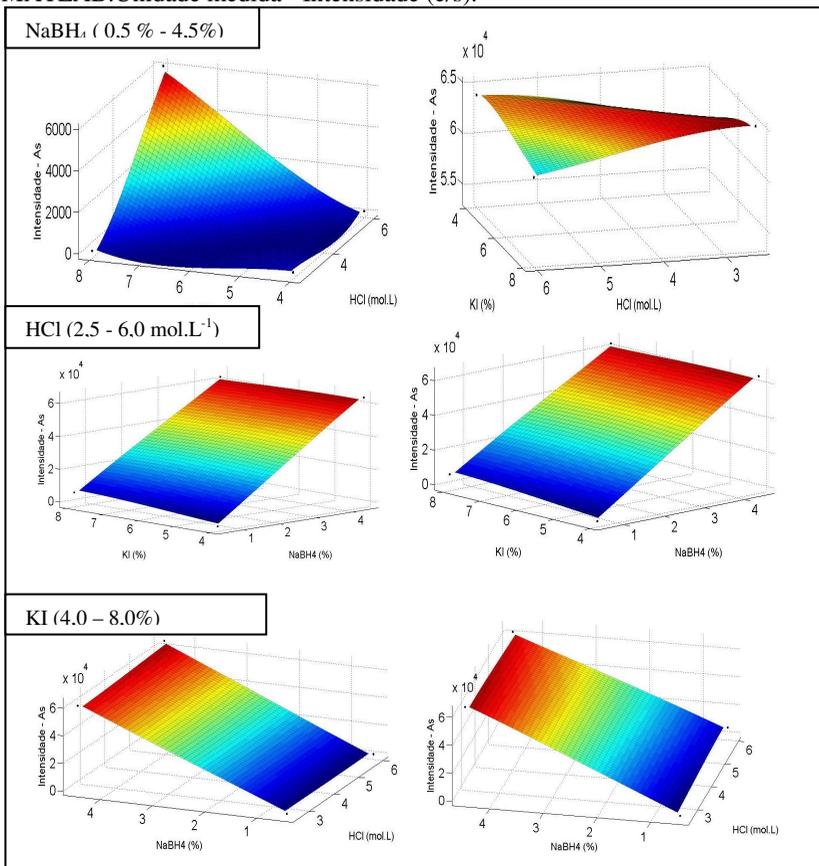
Através do planejamento experimental 2³ da Tabela 03, avaliaram-se as melhores condições químicas dentre as variáveis estudadas para determinação simultânea no gerador de hidreto (concentração de HCl, NaBH₄ e KI).

Examinado a figura 13 (gráfico de superfície de resposta para arsênio), percebe-se um aumento na intensidade de sinal na variação da concentração de NaBH₄ de 0,5 para 4,5%. Apresentando uma melhora significativa com o aumento na concentração. Para o NaBH₄ 4,5% nota-se que as variáveis KI e HCl não sofreram alteração expansiva.

Observa-se ainda que na variação de HCl, houve um aumento crescente para ambas as concentrações obtendo-se resultados próximos de intensidade. Confirmando assim que esta variação de concentração de HCl não interfere na intensidade para a determinação de As.

As concentrações de Iodeto de potássio 4 e 8 % não apresentaram variações de intensidade para determinação de arsênio.

Figura13: Gráficos de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental 2^3 para as variáveis químicas – Arsênio, utilizando a ferramenta MATLAB.Unidade medida - Intensidade (c/s).



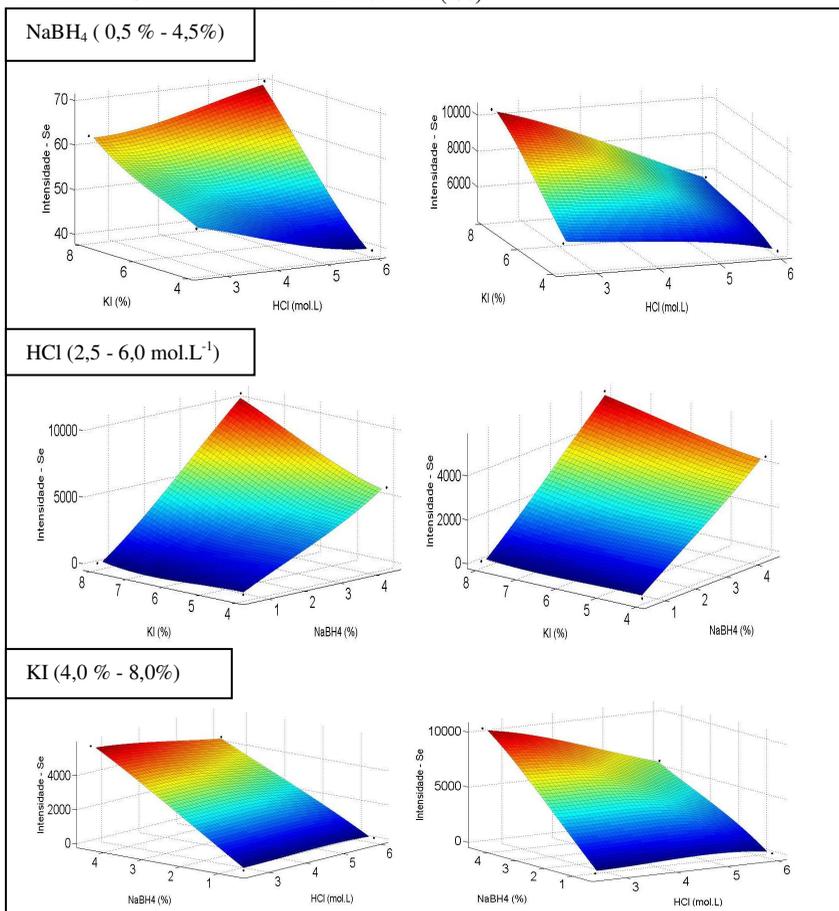
Fonte: Autora, 2014.

O Planejamento experimental para o elemento selênio apresentou conforme observado na figura 14 (gráfico de superfície de resposta), uma intensidade superior às demais quando utilizado as variáveis NaBH₄ e KI, em concentração de 4,5 e 8,0 % respectivamente, mostrando um bom alinhamento das variáveis químicas.

Porem para a variável HCl o resultado para a concentração de 6,0 mol.L apresentou resposta inferior a encontrada na concentração de 2,5

mol.L. Justificando-se que o uso de alta concentração de HCl, libera na reação o sub-produto Cl_2 , ocorrendo assim a re-oxidação de Se(IV) para Se(VI). Conforme KRIVAN e colaboradores (1985) concluíram que 97% do selênio permanece como Se (VI) em HCl 5 mol L^{-1} a 25°C. Sendo definido a concentração de 4,0 mol L^{-1} nos estudos posteriores.

Figura 14: Gráfico de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental 2^3 para as variáveis químicas – Selênio, utilizando a ferramenta MATLAB. Unidade medida - Intensidade (c/s).



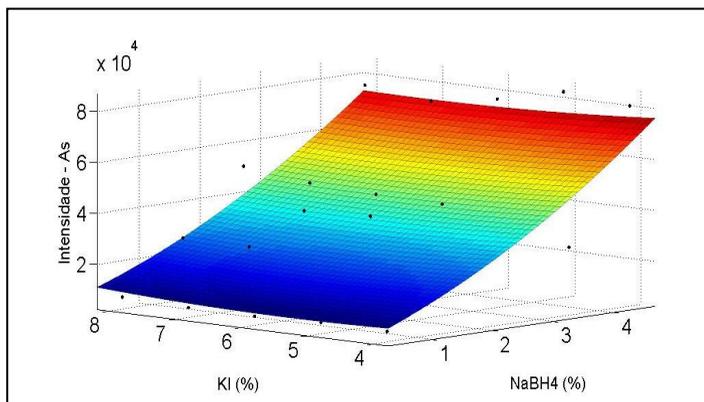
Fonte: Autora, 2014.

Após a interpretação dos resultados obtidos no planejamento fatorial realizou-se um estudo minucioso destas variáveis, no qual se fixou

a variável HCl em 4 mol.L^{-1} , pois como as concentrações de 2,5 e $6,0 \text{ mol.L}^{-1}$ apresentaram a mesma intensidade para As e uma possível interferência para o elemento Se, esta condição ácida foi escolhida para eliminar danos ao sistema e tentar melhorar a condição para Se. Variando os parâmetros NaBH_4 e KI (conforme tabela 04), a fim de estreitar as concentrações e obter assim a condição química de melhor intensidade para geração simultânea dos hidretos.

Analisando a figura 15 para determinação minuciosa de arsênio, percebe-se que a intensidade sofre alteração significativa à medida que se altera a concentração de NaBH_4 . Apresentando como melhor resposta a concentração de 4,5% de NaBH_4 . Para a variável KI, todas as concentrações apresentaram aumento de acordo com a solução de NaBH_4 , porém a de maior intensidade obtida na combinação foi a concentração de 5,0%.

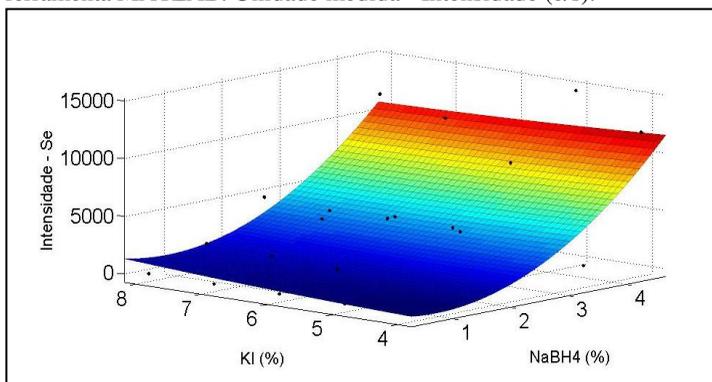
Figura 15: Gráfico de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental tipo estrela 2^2 para as variáveis químicas – Arsênio, utilizando a ferramenta MATLAB. Unidade medida - Intensidade (c/s).



Fonte: Autora, 2014.

Para o planejamento experimental tipo estrela para o elemento Se, conforme analisado a figura 16, nota-se uma resposta similar ao encontrada para As, intensidades elevadas à medida que se eleva a concentração de NaBH_4 . Para determinação de selênio a intensidade obtida como ideal neste estudo foi superior ao planejamento experimental 2^3 . Comprovando uma melhor condição de trabalho encontrada.

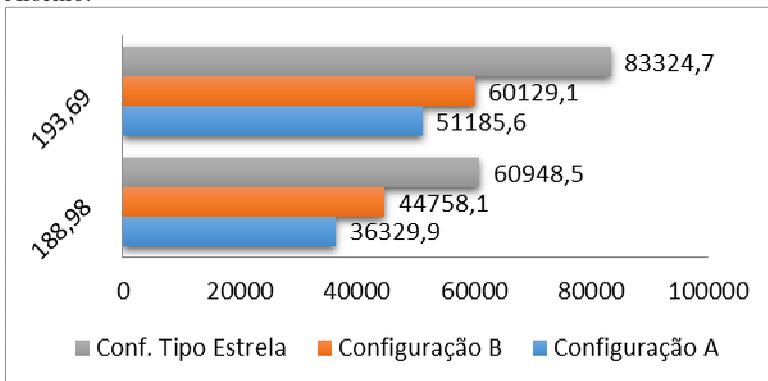
Figura 16: Gráfico de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental tipo estrela 2^2 para as variáveis químicas – Selênio, utilizando a ferramenta MATLAB. Unidade medida - Intensidade (c/s).



Fonte: Autora, 2014.

Comparando os resultados encontrados no planejamento experimental tipo estrela com a configuração A e B, nota-se que a interação das soluções NaBH₄ (4,5%) e KI (5%) apresentaram para o elemento arsênio intensidades superiores as encontradas nas configurações iniciais.

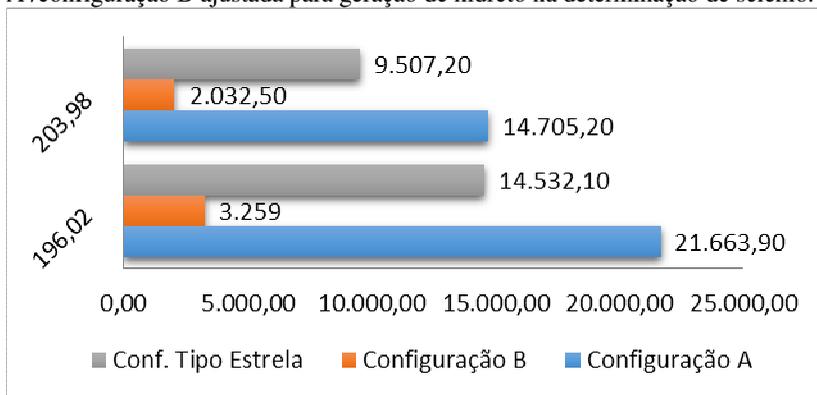
Figura 17: Gráfico das intensidades (c/s) referentes aos sistemas: configuração A/ configuração B ajustada para geração de hidreto na determinação de Arsênio.



Fonte: Autora, 2014.

Analisando a figura 18, a intensidade obtida com o ajuste das variáveis químicas no planejamento detalhado, na determinação de selênio apresentou o melhor resultado comparando-o a todos os ensaios feitos com adição de KI. Sendo uma intensidade próxima à encontrada na configuração A e superior à encontrada no planejamento experimental 2^3 utilizado na configuração B. Confirmando assim a determinação simultânea de As e Se.

Figura 18: Gráfico das intensidades (c/s) referentes aos sistemas: configuração A /configuração B ajustada para geração de hidreto na determinação de selênio.



Fonte: Autora, 2014.

Apresentadas na tabela 08, as condições químicas ótimas para utilização do método HG – ICP OES.

Tabela 08 - Condições químicas otimizadas para a geração simultânea de hidretos As e Se.

Variáveis	Concentração
HCl	4,0 mol.L ⁻¹
NaBH ₄	4,5 %
KI	5,0 %

Fonte: Autora, 2014

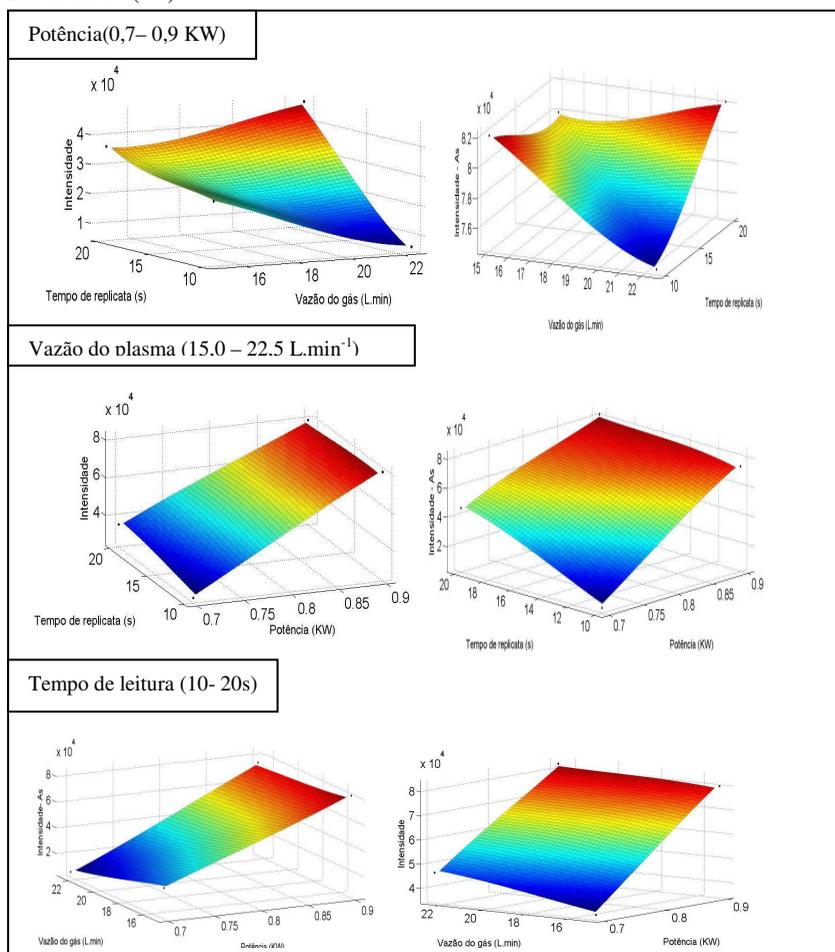
4.2.1.4 Variáveis Instrumentais

Após definidas as melhores respostas dentre as concentrações utilizadas foi realizado um planejamento experimental com o objetivo de encontrar melhor condição do equipamento para a determinação simultânea de As e Se, conforme apresentado na Tabela 04.

Avaliando a figura 19 nas condições pesquisadas, percebe-se um aumento significativo com a potência do plasma em 0,9kW. Para avariação da vazão do gás nota-se um acréscimo significativo em ambas às vazões estudadas, obtendo-se uma intensidade de valor aproximado.

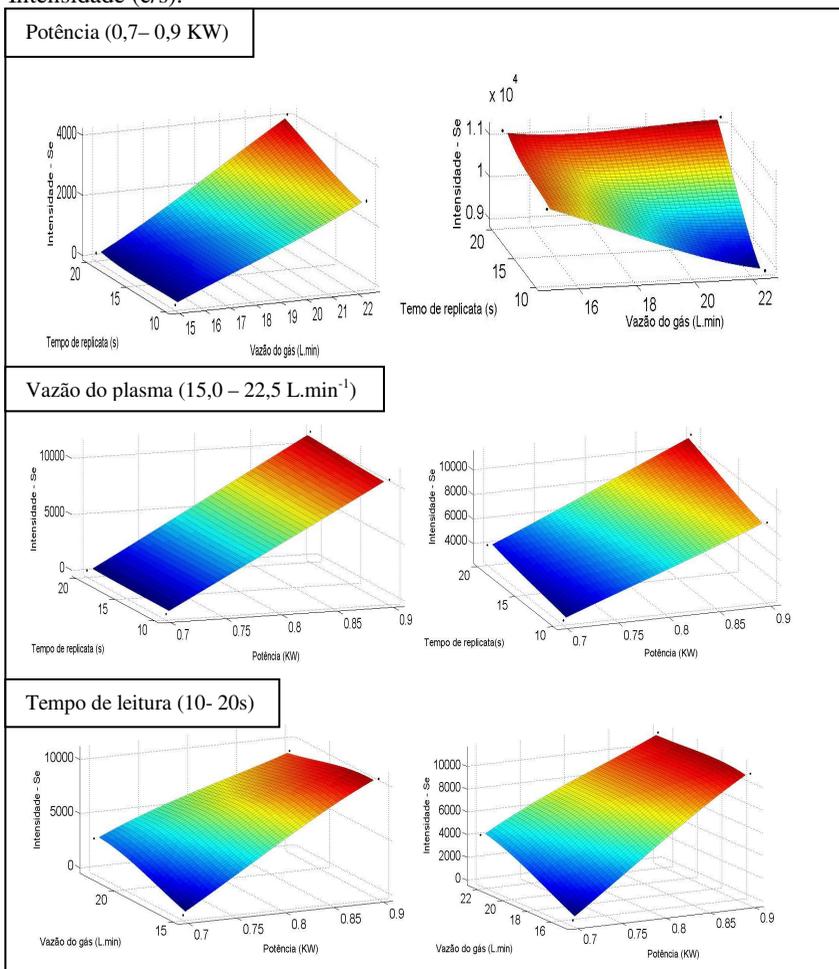
Analisando a máxima e a mínima no tempo de replicada das amostras percebe-se intensidade similar para ambos as variações de tempo.

Figura 19: Gráfico de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental 2^3 para as variáveis instrumentais – Arsênio. Unidade medida - Intensidade (c/s).



No planejamento experimental para Selênio, conforme figura 20 a variável com maior resposta positiva na análise foi à potência 0.9KW. Sendo que para as variáveis: vazão do gás e tempo de replicata das amostras houve um aumento crescente nas escalas estudadas, porém apresentando intensidades máximas aproximadas. Não apresentando assim efeito significativo entres a máximas e mínimas analisadas.

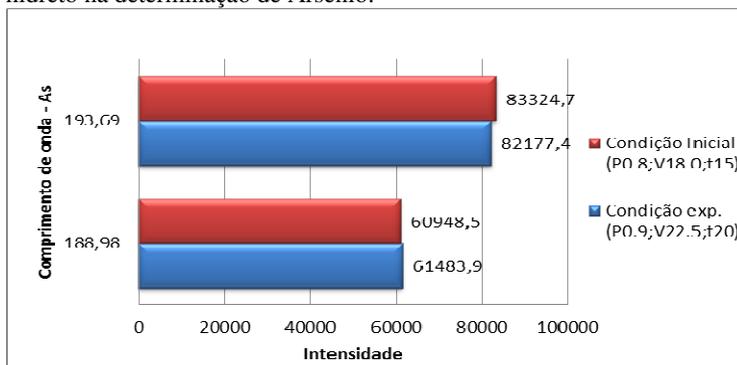
Figura 20: Gráfico de superfícies de resposta referente ao planejamento experimental 2^3 para Variável Instrumental – Selênio. Unidade medida - Intensidade (c/s).



Fonte: autora, 2014.

Porém quando o comparamos com as condições intermediárias utilizada nos ensaios iniciais para determinação das variáveis químicas, percebemos um resultado de intensidade similar para a determinação de arsênio.

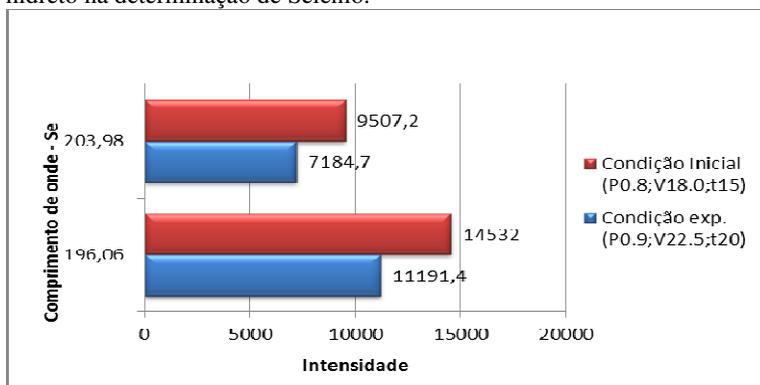
Figura 21: Gráfico das intensidades (c/s) referentes às condições instrumentais iniciais comparadas com o planejamento experimental ajustada para geração de hidreto na determinação de Arsênio.



Fonte: Autora, 2014.

Conforme apresentado na figura 22, nota-se que as condições iniciais para a determinação de selênio apresentou uma intensidade superior ao planejamento experimental realizado com o intuito de se encontrar uma condição melhor de trabalho.

Figura 22: Gráfico das intensidades (c/s) referentes às condições instrumentais iniciais comparadas com o planejamento experimental ajustada para geração de hidreto na determinação de Selênio.



Fonte: Autora, 2014.

Analisando os resultados apresentados optou-se por manter as condições iniciais visando uma vida útil prolongada do equipamento, uma vez que altas potencias diminuem consideravelmente tempo de vida do equipamento.

As condições instrumentais estabelecidas com base nos resultados discutidos são apresentadas na tabela 09.

Tabela 09 - Condições instrumentais otimizadas para a geração simultânea de hidretos As e Se.

Variáveis	Concentração
Potencia	0,8 KW
Vazão do Plasma	18,5 L. min ⁻¹
Tempo de Leitura	15 s

Fonte: Autora, 2014.

4.3 DESEMPENHO ANALITICO

4.3.1 Validação do Método Proposto

Teste de adição e recuperação foi à estratégia de verificação da precisão e exatidão adotada para quantificar o método proposto. O estudo baseia-se na fortificação das amostras através da adição de concentrações conhecidas dos analitos. Calcula-se a quantidade percentual recuperada na análise usando a formula 11:

$$\text{REC \%} = \frac{\text{CF} \times \text{CA}}{\text{CP}} \times 100 \quad (11)$$

Onde CF e o valor encontrado da amostra após adição do padrão, CA valor obtido da amostra e CP e o valor do padrão adicionado (BRITO et al.,2006).O teste foi realizado adicionando-se três diferentes concentrações dos analitos 0.01, 0.025 e 0.10ppm em amostras de efluentes industriais, os valores de concentração foram escolhidos aleatoriamente , com o objetivo de representar uma concentração do inicio e meio da curva de calibração, com finalidade de atender o limite exigido nas legislações ambientais para As e Se.

Tabela 10 - Resultados obtidos nos ensaios de adição e recuperação.

Amostras	Recuperação (%)			
	As		Se	
	188,98 nm	193,69 nm	196,06 nm	203,98 nm
Amostra X	120	120	120	120
Amostra Y	88	88	84	84
Amostra Z	98,8	98	90	90

Fonte: Autora, 2014.

Analisando a tabela 10, os resultados expostos são a média das percentagens de recuperação obtidas. Nota-se que as percentagens de recuperação variaram de 84 a 120%. E aceitável percentuais de recuperação entre 80 a 120%, evidenciando a boa exatidão do método simultâneo de As e Se.

4.3.2 Intercomparação de Métodos Analíticos

Utilizou-se na determinação de As e Se a técnica de espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (FG-AAS) para comparação e validação do sistema HG-ICPOES proposto.

Com a finalidade de se estudar a melhor digestão para a determinação dos metais, foi realizada duas digestões diferentes para cada amostra. Onde utilizou-se a abertura com ácido nítrico e clorídrico, uma vez que as amostras são acidificadas no momento da coleta com um dos ácidos acima. Comparando os resultados obtidos entre as técnicas conforme as tabelas 11 e 12, percebe-se que para o método FG-AAS os ácidos utilizados na digestão da amostra não interferiram na determinação dos analitos.

Tabela 11 - Intercomparação de técnicas analíticas na determinação de Arsênio.

		HG-ICPOES		FG-AAS	
Comprimento de onda (λ)					
Amostras	188,98 nm	193,69 nm	193,70 nm	Esperado	
Amostra X c/ HNO ₃	0,012	0,012	0,011	0.010 mg/L	
Amostra X c/ HCl	0,013	0,013	0,012	0.010 mg/L	
Amostra Y c/ HNO ₃	0,029	0,029	0,026	0.025 mg/L	
Amostra Y c/ HCl	0,022	0,022	0,025	0.025 mg/L	
Amostra Z c/ HNO ₃	0,096	0,096	0,11	0.10 mg/L	
Amostra Z c/ HCl	0,099	0,098	0,11	0.10 mg/L	

Fonte: Autora, 2014

Porém para o sistema HG-ICP OES na determinação de Selênio a digestão com HNO₃ não apresentou valores esperados conforme proposto pela adição e recuperação do analito. Confirmando uma reação mais violenta por conta do HNO₃ ser um ácido mais oxidante e consequentemente com maior liberação de H₂.

Ficando definido que para utilização do sistema simultâneo de As e Se no HG-ICPOES é necessário a digestão com HCl.

Tabela 12 - Intercomparação de técnicas analíticas na determinação de Selênio.

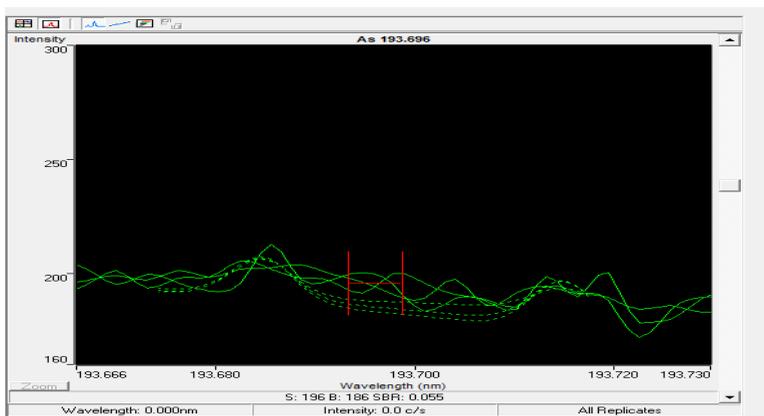
		HG-ICPOES		FG-AAS	
Comprimento de onda (λ)					
Amostras	188,98 nm	193,69 nm	193,70 nm	Esperado	
Amostra X c/ HNO ₃	0.024	0.024	0.012	0.010 mg/L	
Amostra X c/ HCl	0.012	0.012	0.011	0.010 mg/L	
Amostra Y c/ HNO ₃	0.022	0.022	0.026	0.025 mg/L	
Amostra Y c/ HCl	0.021	0.021	0.026	0.025 mg/L	
Amostra Z c/ HNO ₃	0.026	0.026	0.096	0.10 mg/L	
Amostra Z c/ HCl	0.090	0.091	0.098	0.10 mg/L	

Fonte: Autora, 2014

Quando comparamos os resultados medidos em forma de intensidade, encontrados neste estudo de desenvolvimento da técnica de

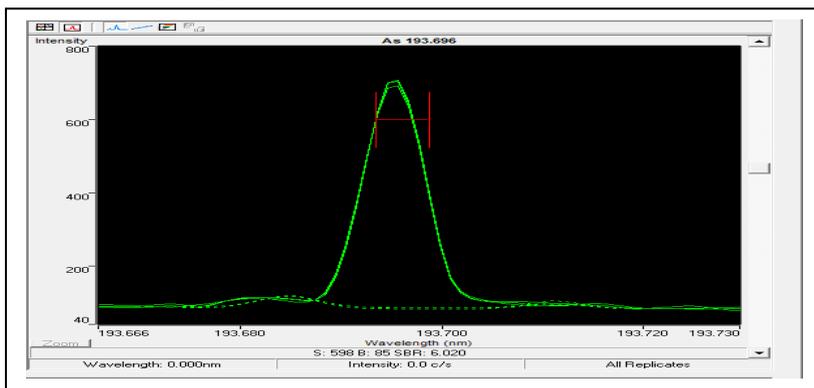
HG-ICP OES com o procedimento padrão do ICP-OES, conforme apresentado nos gráficos abaixo, obteve-se baixos limites de detecção que conferem ao método alta sensibilidade e eliminação significativa dos ruídos de fundo comparando com o método tradicional do ICP OES.

Figura 23 - Gráfico de Intensidade(c/s), obtida no método tradicional do ICP OES, com o padrão de 0,01 mg/L de As.



Fonte: Autora, 2014.

Figura 24 - Gráfico de Intensidade(c/s), obtida no método gerador de hidreto - ICP OES, com o padrão de 0,01 mg/L de As.



Fonte: Autora, 2014.

5 CONCLUSÃO

A metodologia proposta para a determinação simultânea de As e Se pelo método gerador de hidreto utilizando a técnica ICP-OES foi otimizada usando como ferramenta o planejamento experimental multivariado, ferramenta matemática que possibilitou encontrar as condições ótimas das variáveis químicas e instrumentais em função das intensidades máximas obtidas.

Dentre as variáveis estudadas, as mais críticas foram a concentração do NaBH_4 , KI e a potencia do plasma. Sendo definida como condição ótima para determinação de As e Se as concentrações de: NaBH_4 – 4,5%, KI – 5,0%, HCl – 4mol/L adicionado a amostra antes da análise, a potencia do plasma 0,8 KW, vazão do plasma 18 L/min, e tempo de replicata das amostras de 15s.

O estudo para digestão de amostra mostrou que a utilização de ácido nítrico afeta drasticamente os resultados de selênio na geração de hidretos, devido sua alta liberação de H_2 uma vez por se tratar de um ácido fortemente oxidante. A digestão com ácido clorídrico demonstrou resultados satisfatórios, sendo definida a abertura de amostra com HCl.

As determinações realizadas com amostras foram possíveis com a calibração externa de adição e recuperação do analito, na qual se obteve resultados considerados confiáveis. O teste de adição e recuperação foi utilizado na ausência de material certificado, a fim de comprovar a qualidade dos resultados obtidos. A exatidão foi expressa através dos resultados apresentados em percentuais que variaram de 84 a 120%, considerados aceitáveis para validação do método.

O método utilizado para geração de hidretos HG-ICPOES demonstrou baixos limites de detecção que conferem ao método alta sensibilidade e eliminação significativa dos ruídos de fundo comparando com o método tradicional do ICP OES.

Na intercomparaçãodas técnicas utilizadas nota-se grande vantagem para a técnica HG-ICPOES em relação à FG-AAS, uma vez que foram utilizados gases com purezas diferentes resultando numa economia de 90%.

Conclui-se que o sistema poderá vir a ser empregado com sucesso em procedimentos de rotina em laboratório de análise traços.

REFERÊNCIAS

ADKINS, R.L., WALSH, N., EDMUNDS, M. & TRAFFORD, J.M., **"Inductively coupled plasma atomic emission spectrometric analysis of low levels of selenium in natural waters"**. *Analyst*, 120: 1433, 1995.

ABRANKÓ, L.; STEFANKA, Z. & AND FODOR, P. **"Possibilities and limits of the simultaneous determination of As, Bi, Ge, Sb, Se, and Sn by flow injection- hydride generation-inductively coupled plasma-time-of-flight mass spectrometry (FI-HG-ICP-TOFMS)"**. *Anal.Chim.Acta*, 493: 13, 2003.

ANDREAE, M. O. **"Determination of arsenic species in natural-waters"**. *Anal. Chem.*, 49: 820, 1977.

B.K. Mandal, K.T. Suzuki, ***Arsenic round the world: a review***, *Talanta* 58, 201, 2002

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Águas subterrâneas: um recurso a ser conhecido e protegido**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2007. 38 p.

BECKER, K., GROMER, S., SCHIRMER, R. H., & MULLER, S. **"Thioredoxin reductase as a pathophysiological factor and drug target"**. *Eur. J. Biochem.*, 267: 6118, 2000.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e otimização de experimentos**, Ed UNICAMP: Campinas, 1995.

BRAMAN, R.S.; JUSTEN, L.L.; FOREBACK, C.C. **Direct volatilization spectral emission type detection system for nanogram amounts of arsenic and antimony**. *Analytical Chemistry*, v.44, p.2195, 1972.

BRAMAN, R.S. & FOREBACK, C.C., **"Methylated forms of arsenic in environment"**, *Science*, 182: 1247, 1973.

BRUNORI, C., CALLE-GUNTIÑAS, M.B. & MORABITO, R. **"Optimization of the reduction of Se (VI) to Se (IV) in a microwave oven"**. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 360: 26, 1998.

BRYCE, D. W., IZQUIERDO, A. & CASTRO, L. "Speciation of inorganic selenium using flow injection hydride generation atomic fluorescence spectrometry". *J. Anal. At.Spectrom.*, 10: 1059, 1995.

CADORE, S. & BACCAN, N., "Continuous hydride generation system for the determination of trace amounts of bismuth in metallurgical materials by atomic absorption spectrometry using an on-line stripping-type generator/gas-liquid separator", *J. Anal.At.Spectrom.*, 12: 637, 1997.

CARRERO, P., MALAVÉ, A., BURGUERA, J.L., BURGUERA, M. & RONDÓN, C., "**Determination of various arsenic species by flow injection hydride generation atomic spectrometry: investigation of the effects of the acid concentration of different reaction media on the generation of arsines**", *Anal. Chim.Acta*, 438: 195, 2001.

CAVA-MONTESINOS P., CERVERA, M. L., PASTOR, A. & GUARDIA, M. "**Hydride generation atomic fluorescence spectrometric determination of ultratraces of selenium and tellurium in cow milk**". *Anal.Chim.Acta*, 481: 291, 2003.

CHANVAIVIT, S. & BRINDLE, I.D., "Matrix independent determination of hydride- forming elements in steels by hydride generation-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *J. Anal. At.Spectrom.*, 15: 1015, 2000.

COELHO, N.M.M., SILVA, A.C. & SILVA, C.M., "**Determination of As(III) and total inorganic arsenic by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry**". *Anal.Chim.Acta*, 460: 227, 2002.

DEDINA, J.; TSALEV, D.L. *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*. New York: John Wiley & Sons, 247p , 1995.

D'ULIVO, A. "Studies on the determination of selenium by hydride generation non-dispersive atomic fluorescence spectrometry using hydrobromic acid-based reaction matrices". *J. Anal. At.Spectrom.*, 4: 67, 1989.

D'ULIVO, A.; GIANFRANCESCHI, L.; LAMPUGNANI, L.; ZAMBONI, R. **Masking agents in the determination of selenium by hydride generation technique**. *SpectrochimicaActa Part B*, v.57, p.

2081-2094, 2002.

D'ULIVO, A.; MARCUCCI, K.; BRAMANTI, E.; LAMPUGNANI, L.; ZAMBONI, R. **Studies in hydride generation atomic fluorescence determination of selenium and tellurium. Part 1. Self interference effect in hydrogen telluride generation and the effect of KI.** *Spectrochimica Acta Part B*, v.55, p.1325-1336, 2000.

DING, W.W.; STURGEON, R.E. Evaluation of electrochemical hydride generation for the determination of total antimony in natural waters by AAS with in situ concentration, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.11, p.225-230, 1996a.

DING, W.W.; STURGEON, R.E. **Evaluation of electrochemical hydride generation for the determination of arsenic and selenium in sea water by graphite furnace atomic absorption with in situ concentration,** *Spectrochimica Acta Part B*, v.51, p.1325-1334, 1996b.

DING, W.W.; STURGEON, R.E. Interference of copper and nickel on electrochemical hydride generation, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.11, p.421-425, 1996c.

DIPLOCK, A. T. **"Trace elements in human health with special reference to selenium"**. *Am. J. Clin. Nutr.*, 45: 1313, 1987.

FEATHERSTONE, A. M., TOWNSEND, A. T., JACOBSON, G. A. & PETERSON, G.M. **"Comparison of methods for the determination of total selenium in plasma by magnetic sector inductively coupled plasma mass spectrometry"**. *Anal. Chim. Acta*, 512, 319, 2004.

FENG, Y.L.; CHEN, H.W.; CHEN, H.Y.; TIAN, L.C. Sequential determination of tin, arsenic, bismuth and antimony in marine sediment material by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using a small concentric hydride generator and L- cysteine as pre-reductant. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v.361, p.155-157, 1998.

FENG, Y. L.; CHEN, H. Y.; TIAN, L. C., & NARASAKI, H. **Off-Line "Separation and determination of inorganic arsenic species in natural water by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry with hydride generation combined with reaction of arsenic (V) and L-cysteine"**. *Anal. Chim. Acta*, 375: 167, 1998b

FOSTER, L.H. & SUMAR, S., "Selenium concentrations in soya based milks and infant formulae available in the United Kingdom". *Food Chem.*, 56: 93, 1996.

GALLIGNANI, M., VALERO, M., BRUNETTO, M.R., BURGUERA, J.L., BURGUERA, M. & PEÑA, Y.P., "Sequential determination of Se (IV) and Se (VI) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry with HCl/HBr microwave aided pre-reduction of Se (VI) to Se (IV)". *Talanta*, 52: 1015, 2000.

GAINES, P. "Sample Introduction for ICP-MS". *Spectroscopy*, 20.2005

GINÉ, M.F. **Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente**. Piracicaba: CENA, 1998. 78p. (Série didática, v.3)

GREENFIELD, S.; JONES, I.L.I.; BERRY, T.C. **High pressure plasmas as spectroscopyemissionsources**. *Analyst*, v.89, p.713-720, 1964.

GINE-ROSIAS, M.F. **Espectrometria de massas com fonte de plasma**. Piracicaba, CENA. 1999, p118.

GOULDEN, P.D.; ANTHONY, D.H.J.; AUSTEN, K.D. **Determination of arsenic and selenium in water, fish, and sediments by inductively coupled argon plasma emission spectrometry**. *Analytical Chemistry*, v.53, p.2027-2029, 1981.

HILL, S. J., PITTS, L. & WORSFOLD, P. "Investigation into the kinetics of selenium (VI) reduction using hydride generation atomic fluorescence detection". *J. Anal. At.Spectrom.*, 10: 409, 1995.

HILL, S.J. **Inductively coupled plasma spectrometry and its applications**. England: Sheffield Academic Press, 1999.370p.

HANSEN, J. C., & DEGUCHI, Y. "Selenium and fertility in animals and man- A review" *Acta Vet.Scandinavia*, 37: 19, 1996.

KLAPEC, T., MANDIC, M. L., GRGIC, J., PRIMORAC, Lj., PERL, A. & KRSTANOVIC, V. "Selenium in selected foods grown or purchased". eastern Croatia". *Food Chem.*, 85: 445, 2004.

KOHRLE, J., BRIGELIUS-FLORE, R., BOCK, A., GARTNER, R., MEYER, O. & FLOHE, L. **"Selenium in biology: facts and medicinal perspectives"**. *Biol. Chem.*, 381: 849, 2000.

KOS, V., VEBER, M. & HUDNIK, V. "Determination of selenium in soil by hydride generation AAS". *Fresenius J. Anal. Chem.*, 360: 225, 1998.

KRIVAN, V., PETRICK, K., WELZ, B. & MELCHER, M. **"Radiotracer error-diagnostic investigation of selenium determination by hydride - generation atomic absorption spectrometry involving treatment with hydrogen peroxide and hydrochloric acid"**. *Anal. Chem.*, 57: 1703, 1985.

LAKOTA, V. N.; MAKAREVICH, V. I.; ARKHUTIK, S. S.; KOLOMIETS, N. D., & MUROKH, V. I. **"Determination of arsenic, mercury, and selenium by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry"**. *J. Anal. Chem.*, 54: 251, 1999.

LAMBERT, D. F., & TUROCZY, N. J. **"Comparison of digestion methods for the determination of selenium in fish tissue by cathodic stripping voltammetry"**. *Anal. Chem. Acta*, 408: 97, 2000.

LAFUENTE, J.M.G., SÁNCHEZ, M.L.F., MARCHANTE-GAYÓN, J.M., URÍA, J.E.S., SANZ-MEDEL, A., **"On-line focused microwave digestion-hydride generation of inorganic and organic selenium: total determination and inorganic selenium speciation by atomic absorption spectrometry"**. *Spectrochim. Acta Part B*, 51, 1849, 1996.

LABORDA, F.; BOLEA, E.; CASTILLO, J.R. Tubular electrolytic hydride generator for continuous and flow injection sample introduction in atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.15, p.103-107, 2000.

LEE, D. K. & CHOI, B. S. **"Effect of hydrochloric acid concentrations on the hydride generation efficiencies in ICP-AES"**. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 17: 964, 1996.

LEMES, M.J. de L. **Avaliação de metais e elementos-traço em águas e sedimento das bacias hidrográficas dos rios Mogiguaçu e Pardo, São Paulo**. São Paulo, 2001. 215p. Dissertação (Mestrado) - IPEN - Instituto de Pesquisas Energética e Nucleares.

MANDAL, B. K., OGRA, Y., ANZAI, K. & SUZUKI, K. T. "**Speciation of arsenic in biological samples**". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 198: 307, 2004.

MENEGÁRIO, A.A. & GINÉ, M.F. "**Rapid sequential determination of arsenic and selenium in waters and plant digests by hydride generation inductively coupled plasma-mass spectrometry**". *Spectrochim. Acta Part B*, 55: 355, 2000.

MORROW, A.; WILTSHIRE, G.; HURSTHOUSE, A. "**An improved method for the simultaneous determination of Sb, As, Bi, Ge, Se, and Te by hydride generation ICP- AES: Application to environmental samples**". *Atomic Spectroscopy*, v.18, p.23-28, 1997.

MOOR, C. & KOBLER, J. "**Determination of selenium in sediments by inductively coupled plasma-mass spectrometry: high resolution versus hydride generation**". *J. Anal. At. Spectrom.*, 16: 285, 2001.

MORAES, S. D., SINN, H., R., HABERMEHL, G., TERNES, W. & CAMPOS, R. C. "**Determinação de selênio em fígado bovino pela técnica de geração de hidretos - espectrometria de absorção atômica**". *Pesq. Agrop. Bras.*, 11: 1347, 1995.

NAVARRO, M., LÓPEZ, H., RUIZ, M. L., GONZÁLEZ, S., PÉREZ, V. & LÓPEZ, M.C. "**Determination of selenium in serum by hydride generation atomic absorption spectrometry for calculation of daily dietary intake**". *Sci. Total Environ.*, 175: 245, 1995.

OLIVEIRA, E., MALAREN, J. W. & BERMAN, S. S. "**Simultaneous determination of arsenic, antimony and Selenium in marine samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry**". *Anal. Chem.*, 55: 2047, 1982.

OLIVEIRA, E. **Apostila do Curso de Espectrometria de Emissão Atômica: ICP-AES**. SP: Pós-Graduação (IQ-USP), 48p., 1998.

PARKER, L. R., TIOH, N. H. & BARNES, R. M. "**Optimization approaches to the determination of arsenic and selenium by hydride generation and ICP-AES**". *Appl. Spectrosc.*, 39: 45, 1985.

PINILLOS, S. C., ASENSIO, J. S. & BERNAL, J. G. "Simultaneous determination of arsenic, antimony and selenium by gas-phase diode array molecular absorption spectrometry, after preconcentration in a cryogenic trap". *Anal. Chem. Acta*, 300: 321, 1995.

PITTS, L., FISHER, A. WORSFOLD, P. & HILL, S. J. "Selenium speciation using high performance liquid chromatography-hydride generation atomic fluorescence with on-line microwave reduction". *J. Anal. At. Spectrom.*, 10: 519, 1995.

POHL, P.; ZYRNICKI, W. Study of chemical and spectral interferences in the simultaneous determination of As, Bi, Sb, Se and Sn by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry; *Analytica Chimica Acta*, v.468, p.71-79, 2002.

PRETORIUS, L.; KEMPSTER, P. L.; VANVLIET, H. R., & VANSTADEN, J. F. "Simultaneous determination of arsenic, selenium and antimony in water by an inductively coupled plasma hydride method". *Fresenius J. Anal. Chem.*, 342: 391, 1992.

QUINAIA, S. P. & ROLLEMBERG, M. C. E. "Selective reduction of arsenic species by hydride generation- atomic absorption spectrometry. Part 2 - sample storage and arsenic determination in natural waters". *J. Braz. Chem. Soc.*, 12: 37, 2001.

RAYMAN, M. P., ABOU-SAKRA, F. R. & WARD, N. I. "Determination of selenium in blood serum by hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, 11: 61, 1996.

RIBEIRO, F. B., **Tratamento de Água Micropoluentes selênio**, 2002. Disponível

em: <<http://www.tratamentodeagua.com.br/a1/informativos/index.php>>. Acesso em: 06 jan. 2014.

RIBEIRO, A. S., VIEIRA, M. A. & CURTIUS, A. J. "Determination of hydride forming elements (As, Sb, Se, Sn) and Hg in environmental reference materials as acid slurries by on-line hydride generation inductively coupled plasma spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, 59: 243, 2004.

REILLY, C., "Selenium in Australian health and disease: a review". *Aust. J. Nutri. Diet.*, 50: 137, 1993.

RINGMANN, S., BOCH, K., MARQUARDT, W., SCHUSTER, M., SCHLEMMER, G. & KAINRATH, P. "Microwave-assisted digestion of organoarsenic compounds for the determination of total arsenic in aqueous, biological, and sediment samples using flow injection hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, 452: 207, 2002.

RISNES, A.; LUND, W. Comparison of systems for eliminating interferences in the determination of arsenic and antimony by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v.11, p.943-948, 1996.

ROJAS, I.; MURILLO, M.; CARRION, N., & CHIRINOS, J. "Investigation of the direct hydride generation nebulizer for the determination of arsenic, antimony and selenium in inductively coupled plasma optical emission spectrometry". *Anal. Bioanal. Chem.*, 376: 110, 2003.

ROSA, C. R., MORAES, M., NETO, J. A. G., NÓBREGA, J. A. & NOGUEIRA, A. R. A. "Effect of modifiers on thermal behaviour of Se in acid digestates and slurries of vegetables by graphite furnace atomic absorption spectrometry". *Food Chem.* 79: 517, 2002.

SANTOS, E. J. & OLIVEIRA, E. "Evaluation of arsenic and selenium in Brazilian soluble coffee by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with hydride generation". *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 44: 233, 2001.

SCHRAMMEL, P.; XU, L.Q. Determination of arsenic, antimony, bismuth, selenium and tin in biological and environmental-samples by continuous-flow hydride generation icp-ae without gas-liquid separator. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, v.340, p.41-47, 1991.

STRIPEIKIS, J.; TUDINO, M.; TROCCOLI, O.; WUILLOUD, R.; OLSINA, R.; MARTINEZ, L. "On-line copper and iron removal and selenium(VI) pre-reduction for the determination of total selenium by flow-injection hydride generation inductively coupled plasma optical

emission spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, v.56, p.93-100, 2001.

SOUZA, M. L., MENEZES, H. C. "Processamentos de amêndoa e torta de castanha-do-Brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade". *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 24: 120, 2004.

STURGEON, R. E., & MESTER, Z. "Analytical applications of volatile metal derivatives". *Appl. Spectrosc.*, 56: 202, 2002.

TAKASE, I., PEREIRA, H. B., LUNA, A. S., GRIMBERG, P. & CAMPOS, R. C. "A geração química de vapor em espectrometria atômica". *Quím.Nova*, 25, 1132, 2002.

TAO, G. H., STURGEON, R.E. **Sample nebulization for minimization of transition metal interferences with selenium hydride generation ICP-AES.** *Spectrochimica Acta Part B*, v.54, n.3-4, p.481-489, 1999.

TEMPRANO, M. C. V., FERNANDEZ, B. A., DELACAMPA, M. R. F. & SANZMEDEL, A. "Study of the influence of ordered media on the determination of lead by hydride generation inductively coupled plasma-atomic emission-spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, 283: 175, 1993.

THOMPSON, M.; PAHLAVANPOUR, B., & WALTON, S. J. "Simultaneous determination of trace concentrations of arsenic, antimony, bismuth, selenium and tellurium in aqueous-solution by introduction of gaseous hydrides into an inductively coupled plasma source for emission spectrometry.1. PreliminaryStudies". *Analyst*, 103: 568, 1978.

URSINI, F., HEIM, S., KIESS, M, MAIORINO, M, ROVERI, A., WISSING, J. & FLOHE, L. "Dual function of the selenoproteinPHGPx during sperm maturation". *Science*, 285: 1393, 1999.

VITAMINAS & SAIS MINERAIS - SELÊNIO. Disponível em: <http://www.emedix.com.br/vit/vit030_1f_selenio.php> Acesso em: 06 jan. 2014.

VILLA-LOJO, M. C., ALONSO-RODRÍGUEZ, E., LÓPEZ-MAHIA, P., MUNIATEGUI- LORENZO, S. & PRADA-RODRÍGUEZ, D. "Coupled

high performance liquid chromatography-microwave digestion-hydride generation-atomic absorption spectrometry for inorganic and organic arsenic speciation in fish tissue".*Talanta*, 57: 741, 2002.

VONDERHEIDE, A. P., WROBEL, K., KANNAMKUMARATH, S. S., B'HYMER, C., MONTE-BAYÓN, M., LEÓN, C. P. & CARUSO, J. A. "Characterization of selenium species in Brazil nuts by HPLC-ICP-MS and ES-MS". *J. Agric. Food Chem.*, 50: 5722, 2002.

WELZ, B. & SPERLING, M., "*Atomic Absorption Spectrometry*", Weinheim, Germany, Ed. Wiley-VCH, 3rd ed., 1999.

ZHANG, L. S. & COMBS, S. M. "**Determination of selenium and arsenic in plant and animal tissues by hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry**".*J. Anal. At. Spectrom.*, 11: 1049, 1996.