



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS – ICE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQ**

**OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA PARA ANÁLISE DE SELÊNIO EM**  
**ÁGUA SUBTERRÂNEA USANDO ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO**  
**ÓTICA COM FONTE DE PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO**  
**COM GERADOR DE HIDRETOS (HG ICP OES)**

**ANNY KAROLINY GONÇALVES DA SILVA**

Manaus/AM

2022

**ANNY KAROLINY GONÇALVES DA SILVA**

**OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA PARA ANÁLISE DE SELÊNIO EM  
ÁGUA SUBTERRÂNEA USANDO ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO  
ÓTICA COM FONTE DE PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO  
COM GERADOR DE HIDRETOS (HG ICP OES)**

Dissertação de mestrado do programa de Pós-Graduação em Química na Universidade Federal do Estado do Amazonas-UFAM para defesa de dissertação e posterior obtenção do título de Mestre em Química.

**Orientadora: Dra. TEREZA CRISTINA SOUZA DE OLIVEIRA**

Manaus/AM

2022

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586o Silva, Anny Karoliny Gonçalves da  
Otimização da metodologia para análise de selênio em água subterrânea usando espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado com gerador de hidretos (HG ICP OES) / Anny Karoliny Gonçalves da Silva . 2022  
103 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Tereza Cristina Souza de Oliveira  
Dissertação (Mestrado em Química - Analítica) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Validação. 2. Custo analítico. 3. Água subterrânea.. 4. plasma.  
I. Oliveira, Tereza Cristina Souza de. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

*Otimização da metodologia para análise de selênio em água subterrânea usando espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado com gerador de hidretos (HG ICP OES)*

**ANNY KAROLINY GONÇALVES DA SILVA**

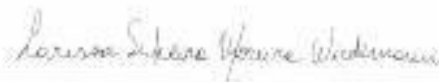
Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre (a) em Química.

Aprovada em, 06 de maio de 2022.



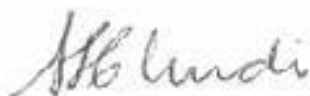
---

TEREZA CRISTINA SOUZA DE OLIVEIRA (PPGQ/UFAM)  
Presidente/Orientadora



---

LARISSA SILVEIRA MOREIRA WIEDMANN (PPGQ/UFAM)  
Membro Interno



---

ADRIANA HADDAD NUDI (PUC-RIO)  
Membro Externo

Em memória de Maria Iracy da Silva Carvalho, minha sogra que me mostrou como é lindo ter intimidade com Nossa Senhora Maria Santíssima a quem eu muito recorri durante essa pesquisa.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, meu sentido de viver, refúgio e segurança, juntamente com todos os anjos e Santos que intercederam por mim, sob o manto da Virgem Maria, durante todos os momentos que eu quis desistir e Ele me sustentou.

À professora Dra. Tereza Cristina Souza de Oliveira, minha orientadora, que confiou na minha capacidade e me acompanhou até aqui, dando todo suporte e auxílio necessário para realização deste trabalho.

Aos membros da comissão examinadora: Professora Dra. Larissa Wiedemamn e professora Dra Adriana Hadadd.

Ao Programa de pós-graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas- PPGQ-UFAM.

À CAPES – pelo apoio financeiro concedido, processo nº 88882.452391/2019-01.

À Companhia de Pesquisa e Recursos Minerais – CPRM base Manaus/AM, pela parceria firmada para realização deste trabalho, em especial a Nilda Pantoja e Larissa Torrezani por todo apoio, ensino, paciência.

Aos colegas de laboratório do LAQUA/LAMESP (Central Analítica-UFAM) que me acompanharam no período de 08/2019 a 04/2022, entre eles Priscila Negreiros que sempre me ajudando nas minhas muitas dúvidas, além de Elton Alves, Joel Costa, Luiz Fhernado, Clara Pinheiro, Marcos, Ademir, Professora Alcinei Lopes, Taynara e Yasmin, que foram exemplo de dedicação laboratoriais nessa jornada.

A amiga de estudos Doutoranda Professora Dorian Leska que muito auxiliou e motivou a não desistir, com quem compartilhei muitos desafios da pós-graduação.

A minha comunidade Católica Hallel por toda interseção e oração, sempre me motivando e me guiando através do Espírito Santo durante toda minha caminhada, em especial aos amigos que lá fiz, entre eles Talita Reis que muito intercedeu por mim e me incentivou e a todos que almejavam meu sucesso acreditando na minha capacidade.

Ao meu esposo César Henrique, que foi paciente e compreensivo sempre, foi meu apoio e segurança durante toda minha vida acadêmica, me incentivou e assumiu meu lugar de mãe durante minhas inúmeras ausências.

Meus filhos Miguel Henrique e Maria Helena, que compartilharam comigo incontáveis leituras, produções de textos e dias incansáveis de estudos e dedicação ao programa.

Aos meus pais Donizete e Raimunda e meus irmãos Kethlen Gonçalves, Dayane Heger, Victor Daniel, meus cunhados Amison Luis, Iris Glenda, Gleida Reis, Iris Kleida e Leida Verônica, meus sogros Clemilta Reis e Domingos Reis, meus

sobrinhos e sobrinhas que muito me incentivaram e apoiaram nessa jornada, sendo minha rede de apoio na maternidade e nas horas difíceis.

Minha Colega de profissão Dra. Gissely Rabelo e minha cunhada Eng. Lilian Kalynka, as quais compartilhei muitas idéias de pesquisas e descobertas sobre a pós-graduação.

Minha prima Samantha Beaulieu e minha tia Solange Beaulieu, que tanto me ajudaram com as versões em inglês do meu resumo.

Ao Centro Educacional Educando com Amor, na pessoa da professora Rafaelly Marinho que acolheu meus filhos quando eu muito precisei, na reta final das minhas análises, bem como o Centro Educacional Amor Divino, na pessoa do professor Ericarlos Rocha, que também me auxiliou neste último momento.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para realização deste trabalho.

Muito obrigada!

*“Desistir...eu já pensei seriamente  
nisto, mas nunca me levei realmente  
a sério; é que tem mais chão nos  
meus olhos do que cansaço nas  
minhas pernas, mais estradas no meu  
coração do que medo na minha  
cabeça”*

Cora Coralina



## RESUMO

A quantidade de selênio no ambiente pode ocorrer naturalmente do intemperismo de rochas e solos, toda via, também é distribuído para o meio ambiente por atividades antropogênicas. Estando presente na água como selenato (+6) e selenito (+4). É um elemento essencial para a saúde humana ao mesmo tempo que em quantidade excessivas torna-se tóxico a saúde, o que torna de grande importância a determinação de selênio principalmente na água, fonte de selênio para o homem. Neste trabalho estão descritas as etapas de otimização da metodologia para determinação de selênio em água subterrânea, usando a técnica ICP OES juntamente com o gerador de hidretos (HG). A otimização foi elaborada considerando melhorias nas variáveis químicas, físicas e instrumentais do equipamento, aplicando-se um planejamento experimental fatorial  $2^3$  e logo em seguida a validação do método otimizado. Os testes foram realizados com o uso de padrões de referência (MRC) e amostras reais de matriz contendo selênio. As variações encontradas como ótimas foram: volume da alíquota 10ml da amostra para redução de Se(+6) para Se (+4), e 2mL para o agente pré-redutor (ácido clorídrico), redução do analito realizada em chapa aquecedora por 10 minutos a 80°C volume e final de 25mL de amostra para análise no equipamento. Para o agente redutor (Borohidreto de sódio), manteve-se a concentração 0,5% em solução 0,2% de NaOH. Para condições instrumentais ficou definida como ideal a vazão do gás 0,3 L/min, para o tempo de limpeza do sistema de 75 segundos e vazão da amostra de 2,0 mL/min. Comparando-se os resultados obtidos com o método convencional de análise (nebulizador ultrassônico), nota-se grande vantagem da técnica HG-ICP OES e com grande viabilização do custo analítico, uma vez que a otimização permitiu uma economia de 50% nos reagentes, gases e amostras utilizados, bem como a redução de 50% no tempo de digestão e na quantidade de resíduos gerados, levando a diminuição no desperdício de água e energia elétrica, sem que haja a perda da qualidade da análise e contribuindo para a preservação ambiental.

**Palavra-chave: Validação, Custo analítico, Água subterrânea, Plasma.**

## ABSTRACT

The amount of selenium in the environment can occur naturally from the weathering of rocks and soils, however, it is also distributed to the environment by anthropogenic activities. Being present in water as selenate (+6) and selenite (+4). It is an essential element for human health although it becomes toxic to health in excessive amounts, which makes the determination of selenium quantities of great importance, especially in water, a source of selenium for man. This work describes the optimization steps of the methodology for the determination of selenium in groundwater, using ICP OES together with the hydride generator (HG). The optimization was elaborated considering improvements in chemical, physical, and instrumental variables, applying a planning experimental  $2^3$ , and soon after the validation of the optimized method. Tests were performed using reference standards (MRC) and real matrix samples with concentrations containing selenium. The variations found to be optimal were: an aliquot volume of 10ml, and 2mL for the pre-reducing agent (hydrochloric acid); analyte reduction performed on a hot plate for 10 minutes at 80°C, and a final volume of 25mL. For the reducing agent (Sodium borohydride), the concentration was maintained at 0.5%. For instrumental conditions, a gas flow of 0.3 L/min was defined as ideal, for a cleaning time of 75 seconds and a sample flow of 2.0 mL/min. Comparing the results obtained with the conventional method of analysis (ultrasonic nebulizer), a great advantage of the HG-ICP OES technique was noted and with great feasibility of the analytical cost, since the optimization allowed a savings of 50% in reagents, gases, and samples used, as well as a 50% reduction in digestion time and the amount of waste generated, leading to a reduction in the waste of water and electricity, without losing the quality of the analysis and contributing to environmental preservation.

**Keywords: Validation, Analytical cost, Groundwater, Plasma.**

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Necessidades diárias de selênio -----	25
Tabela 2: Volume das alíquotas para o preparo da curva de calibração-----	44
Tabela 3: Fontes de incertezas e respectivas incertezas padrões-----	56
Tabela 4: Comparação entre os parâmetros usados na técnica nebulizador ultrassônico e gerador de hidretos-----	58
Tabela 5: Média das intensidades das amostras conforme as respectivas variações - -----	61
Tabela 6: : Configurações instrumentais do equipamento-----	63
Tabela 7: Condições para determinação de selênio em água por geração de hidretos em ICP OES-----	65
Tabela 8: análise do teste F-snedecor, para avaliação do efeito da matriz na curva analítica-----	68

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Processo de emissão de um fóton -----	28
Figura 2: Imagem real do plasma-----	30
Figura 3: Observação do plasma em configuração radial e axial -----	31
Figura 4: Esquema de funcionamento do bloco de mistura Chimefol (HG) PerkinElmer, adaptado.-----	32
Figura 5: Representação de uma bomba peristáltica usada na técnica ICP OES----	36
Figura 6: ICP OES com visão axial PerkinElmer Optima 8000-----	46
Figura 7: Amostrador automático AS93Plus PerkinElmer-----	46
Figura 8: a) Aquecimento das amostras em chapa usando béquer e vidro de relógio. b) Aquecimento em banho-maria, usando frascos hermeticamente fechados-----	60
Figura 9: Representação gráfica da curva analítica de calibração para o selênio e coeficiente de determinação-----	66
Figura 10: Avaliação da Linearidade dos dados da curva através do teste de Grubss (resíduos)-----	66
Figura 11: espectros de emissão da solução-padrão do ponto 0,015 mg/L e da amostra com a matriz -----	66
Figura 12: Representação gráfica da seletividade das amostras com e sem matriz-----	68
Figura 13: Curva de intensidade, construída usando o método convencional com nebulizador ultrassônico.-----	72
Figura 14: Curva de intensidade, construída usando o método otimizado com gerador de hidretos-----	73

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Propriedades físicas e químicas do selênio-----	21
Quadro 2: Características dos compostos de selênio-----	23
Quadro 3: Quantidade de selênio nos alimentos-----	25
Quadro 4: Vantagens e desvantagens do ICP OES-----	26
Quadro 5: Melhorias com o uso do gerador de hidretos-----	33
Quadro 6 : Parâmetros de validação conforme o tipo de ensaio-----	39
Quadro 7 Resultados globais de acordo com os critérios de aceitação-----	69
Quadro 8 : Resultados precisão intermediária-----	70
Quadro 9: Análise da recuperação.-----	70
Quadro 10: Fontes de incertezas-----	70
Quadro 11: Limite de quantificação -----	71

## LISTA DE ABREVEATURAS

AAS – Absorção Atômica de Chama

ABNT – Associação Nacional de Normas Técnicas

ANA – Agência Nacional de Água

ANM – Agência Nacional de Mineração

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

As – Arsênio

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CPRM – Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais

DQO- CGCRE – Coordenação Geral do INMETRO

GF AAS – Absorção Atômica em Forno Grafite

HG – Gerador de Hidretos

HG AAS – Absorção Atômica com Gerador de Hidretos

ICP OES – Espectrometria de Emissão Óptica com o Plasma Indutivamente Acoplado.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia

ISO – Organização Internacional de Normalização

LAMIN – laboratório de Mineralogia

MS- Ministério da Saúde

NBR – Norma Brasileira

NM – Nanômetro

OMS - Organização Mundial da Saúde

PPM – Parte Por Milhão

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RN – Rio Grande do Norte

Sb – Antimônio

Se – Selênio

TS AAS - Absorção Atômica em Forno Tubular de Chama e Aerossol Térmicos.

UFF – Universidade Federal Fluminense

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	18
2.1 Geral	18
2.2 Específicos	18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 Legislação ambiental	18
3.2 Água subterrânea	19
3.3 Caracterização do selênio	21
3.3.1 Propriedades do selênio	21
3.3.2 Linhas espectrais do selênio	22
3.3.3 Ocorrência no ambiente	22
3.3.4 Efeitos biológicos	23
4. TÉCNICA ANALÍTICA	26
4.1 Espectrometria de Emissão Óptica com o plasma de argônio indutivamente acoplado	27
4.2 Instrumentação do ICP OES	29
4.2.1 Fonte de plasma	29
4.2.2 Configuração do plasma	30
4.2.3 Introdução da amostra no ICP OES	31
4.2.3.1 Gerador de hidretos	31
4.2.3.2 Agente pré redutor	34
4.2.3.3 Agente redutor	35
4.2.3.4 Bomba	36
4.2.3.5 Monocromador/policromador	37
4.2.3.6 Atomização/ ionização dos elementos	37
4.3 Interferentes	38
5. VALIDAÇÃO METODOLÓGICA	38
5.1 Seletividade	40
5.2 Linearidade	41
5.3 Limite de quantificação	41
5.4 Recuperação	42
5.5 Repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade	43

5.6	Precisão intermediário-----	43
5.7	Estimativa de incerteza de medição -----	43
6.	PARTE EXPERIMENTAL -----	44
6.1	Reagentes e soluções -----	44
6.2	Instrumentação -----	45
6.3	Otimização do sistema HG ICP OES -----	47
6.4	Planejamento experimental -----	47
6.4.1	Teste com variação química e física na pré redução do selênio-----	49
6.5	Teste com variáveis instrumentais -----	49
7.	REALIZAÇÃO DA VALIDAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO -----	50
7.1	Seletividade -----	50
7.2	Linearidade -----	51
7.3	Limite de quantificação -----	52
7.4	Limite de detecção-----	53
7.5	Recuperação -----	53
7.6	Repetibilidade / precisão intermediária e reprodutibilidade -----	53
7.7	Incerteza de medição -----	53
7.8	Fonte de incerteza -----	55
7.9	Estimativa de incerteza -----	55
7.10	Desempenho analítico -----	56
7.10.1	Curva analítica -----	56
8.	RESULTADOS E DISCUSSÕES -----	56
8.1	Otimização do sistema HG ICP OES-----	56
8.1.1	Teste preliminar: Variáveis químicas e físicas-----	59
8.1.2	Teste variáveis instrumentais-----	63
8.2	Resultado da validação do método -----	62
8.2.1	Análise da linearidade -----	64
8.2.2	Análise da seletividade -----	67
8.2.3	Análise da repetibilidade-----	68
8.2.4	Precisão intermediária -----	69
8.2.5	Análise da recuperação -----	69
8.2.6	Análise da incerteza de medição -----	69
8.2.7	Limite de quantificação -----	70
8.2.8	Limite de detecção -----	70



8.2.9	Teste comparativo de métodos com amostras reais	72
9.	Conclusão	72
10.	Referências	75
	Anexos	

## 1. INTRODUÇÃO

Uma das grandes importâncias da água, além de ser primordial a sobrevivência dos organismos vivos, é também ser um grande regulador do ambiente. Dentre os elementos que compõe naturalmente a água, o selênio está presente, mesmo em níveis de traço. Sendo um elemento essencial para a saúde humana, no entanto, quando em quantidades excessivas, torna-se tóxico a saúde (ALLANDER, 1994).

Com o intuito de garantir que os níveis de selênio estejam em quantidades seguras a população, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 1987) a determinação de baixos níveis de selênio, como encontrados em amostras ambientais, requer análises específicas quanto ao método empregado para determinação, como o tempo de análise, processamento de amostras, reprodutibilidade, sensibilidade e limite de detecção.

As dificuldades relativas à determinação de elementos traços em amostras ambientais, devido à influência da matriz e a baixa concentração do analito, impõem a necessidade do desenvolvimento de métodos extremamente sensíveis e seletivos para a determinação de selênio (HAYGARTH et al., 1993).

A técnica de determinação de metais em traço em água por espectrometria de emissão óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) vem sendo amplamente utilizada para quantificar o selênio a nível de traço, por ser uma técnica adequada para determinação desse elemento em diferentes matrizes. Com uso concomitante desta técnica com a geração de hidretos, apresenta diversas vantagens comparada a outras técnicas espectrométricas, que evita as interferências da matriz na análise devido as altas temperaturas, e melhora a sensibilidade além de diminuir o limite de detecção (STRIPEIKIS et al., 2001; TAO & STURGEON, 1999).

A técnica de ICP OES é baseada na emissão de fóton vindos dos íons excitados por um plasma de argônio, o fóton emitido possui concentração proporcional a do analito analisado. Uma porção destes fótons é coletada com uma lente ou espelhos côncavos, que formam uma imagem na abertura de um equipamento de seleção de comprimentos de onda. Estes comprimentos de onda são convertidos em sinais elétricos por um fotodetector, e em um computador o sinal é amplificado e processado, gerando respostas em concentração para cada um dos analitos (HOU e JONES, 2000).

Outras técnicas para determinar selênio são descritas, dentre elas está Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (FGAA) que é bem mais sensível do que a Absorção atômica por chama (AA), uma vez que o vapor atômico está confinado em um menor volume e tem um maior tempo de residência no caminho ótico. Entretanto, o tempo de análise e as chances de interferência são bem maiores.

Estas interferências se dão porque não só o analito, mas também os componentes da matriz estão mais concentrados no interior do forno. Outra técnica seria a com Forno Tubular na chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS) que também apresenta dificuldades, tanto pelo baixo comprimento de onda que a análise de selênio exige, quanto pela sensibilidade da técnica. (ROSINI, 2005).

A tabela a seguir demonstra um comparativo das técnicas para determinação de metais em água.

CRISPINO (2005), realizou estudo de determinação As, Se e Sb, em material agrônômico por HG- ICP OES, como resultado 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.

Outro estudo comparativo de técnicas para determinação de selênio, foram realizados com espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) e geração de hidretos(HGAAS), ambas demonstram equivalência nos métodos para análise de selênio em água subterrânea por absorção atômica (JUNIOR, 2008).

ZAPPELINI (2014) realizou um estudo para desenvolvimento de método de análise simultânea de selênio e arsênio. Concluiu que o método ICP OES com geração de hidretos pode ser utilizado com sucesso em análises de elementos formadores de hidretos em amostras com baixas concentrações dos analitos.

O Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) possui um documento orientativo que auxilia os laboratórios a implantarem boas práticas, como o guia “Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos - DOQ-CGCE-008” (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL, 2020). Este documento orienta sobre a validação de métodos analíticos, para a identificação dos elementos de interesse de forma correta e com a devida qualidade que os laboratórios analíticos devem apresentar.

A Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais - Serviço Geológico do Brasil (CPRM) é uma empresa pública vinculada ao Ministério de Minas e Energia, que dentre inúmeras funções realiza levantamento hidrogeológico no país, com atividades

focadas em águas subterrâneas e águas superficiais, dentre as atividades está a determinação de metais solúveis em água, em diversos equipamentos para a análise, dentre eles está o ICP OES.

Portanto este trabalho visa otimizar a metodologia já utilizada pela CPRM-Manaus, para determinação de selênio em água subterrânea, bem como realizar testes de validação, com intuito de certificar a confiabilidade do método proposto.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

- Otimizar a metodologia de determinação de selênio em água subterrânea (ICP OES) usando gerador de Hidretos (HG).

### 2.2 Específicos

- Propor o menor consumo de reagentes e de amostra.
- Reduzir consumo de gás argônio (Ar).
- Realizar teste de validação.
- Aplicar a técnica em amostras reais.

## 3. REVISAO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 Legislação ambiental

Água mineral ou água subterrânea, é classificada como um alimento, devido ao consumo humano, e está sujeita a fiscalização pelos órgãos de saúde. O órgão gestor das águas subterrâneas classificadas como minerais ou potáveis de mesa é a ANM (Agência Nacional de mineração) a qual, com a finalidade de disciplinar e uniformizar os procedimentos da outorga e fiscalização das concessões de água mineral (CPRM,2020).

Águas de origem subterrânea fazem parte de um contexto hidrogeológico dinâmico, possuindo composição química e características físicas e físico-químicas

bastante definidas (CPRM, 2020). Na prática, o que diferencia água mineral de água subterrânea são as finalidades do uso, pois a origem é a mesma. Assim o termo água mineral é usado para fins de engarrafamento e balneabilidade, já o termo água subterrânea é usado quando tem utilização pela indústria, agricultura e abastecimento público (CPRM, 2020).

A resolução pertinente para água subterrânea, a qual é seguida pela CPRM, é a Resolução da Diretoria Colegiada Anvisa/MS, RDC 274 de 22 de setembro de 2005, que aprova o regulamento técnico para águas envasadas e gelo, estabelece limites para substâncias químicas que representam risco a saúde, dentre elas o selênio com limite máximo de 0,01mg/L.

Em 03 de abril de 2008 foi instituída a Resolução CONAMA 396 que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas. Essa resolução estabelece 6 classificações para as águas subterrâneas (especial e classes 1 a 5). Os valores máximos permitidos para consumo humano são semelhantes a RDC 274, bem como a portaria nº888, de 4 de maio de 2021 do ministério da saúde, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade; todas estipulam volume máximo permissível (VMP) para selênio, sendo ele, 0,01 mg/L.

### 3.2 Água subterrânea

A água subterrânea é toda água que está abaixo da superfície da Terra, a água que preenche os poros, falhas, fissuras ou fraturas nas rochas e como já dito anteriormente, cumprem uma fase do ciclo hidrológico, uma vez que constituem uma parcela da água precipitada (JÚNIOR, 2008).

O uso da água subterrânea é mais vantajoso que da água disponível na superfície, uma vez que são filtradas e purificadas naturalmente através da percolação, o que resulta em água de boa qualidade sem mais tratamentos. Temos como água subterrânea toda água que ocorre abaixo da superfície do solo, preenchendo os poros ou vazios intergranulares das rochas sedimentares, ou as fraturas, falhas e fissuras das rochas compactas, dando origem aos aquíferos (ANA, 2020). As águas subterrâneas são aproximadamente 97% das águas doces e líquidas do planeta o que as torna mais abundantes que as águas superficiais dos rios e lagos, constituindo-se em importantes reservas de água doce. (SHIKLOMANOV, 1998).

No Brasil, o uso da água subterrânea é bastante intenso, estima-se que existam mais de 2,5 milhões de poços artesianos, para captação de água subterrânea no país, sendo que 88% dos poços são desconhecidos e ficam fora do cadastro dos órgãos ambientais e estatísticas de saneamento. Os aquíferos ocupam cerca de 48% da área territorial total, que contribui para o desenvolvimento socioeconômico, pois é usada no abastecimento humano para lazer, alimentação, agricultura, e em algumas áreas do país é o único manancial hídrico existente e em outras áreas é complementar ao manancial superficial. Dos municípios brasileiros, 52% utilizam águas subterrâneas para o abastecimento. Sendo que 36% são abastecidos exclusivamente e 16% parcialmente por essas águas. (ANA, 2020).

Atualmente a preocupação com o processo de contaminação da água por meios antrópicos vem crescendo notoriamente, à medida que se verifica que, atividades industriais e agrícolas lançam diretamente seus resíduos na água e no solo por vezes sem tratamento prévio, o que pode comprometer tanto a qualidade da água e do solo, como acarretar riscos à saúde pública e ao meio ambiente. Diante de uma exploração desordenada que ocorre em todo território nacional, é essencial uma política de uso das águas subterrâneas, sabendo-se que se trata de um recurso estratégico e sua degradação pode causar consequências irreversíveis ao meio ambiente e a população.

Diversos estudos realizados no Brasil apontam níveis de selênio em águas subterrâneas além do permitido, como estudos realizado por JUNIOR (2008) na região noroeste do estado de São Paulo, para determinação de selênio em água subterrânea, encontrou níveis acima do limite máximo permissível provavelmente associados a fatores mineralógicos da região.

Em estudo realizado por RIBEIRO (2002), foram analisados 99 poços da Região de Buena – Município de São Francisco do Itabapoana/RJ, dos 99 poços analisados, 33 encontraram-se com teores de Selênio acima do recomendado, conforme os padrões de potabilidade do Ministério da Saúde. Alguns poços apresentaram teores iguais a 0,020 mg/L (o dobro do permitido por lei). Limites de Selênio acima do valor máximo permitido (VMP) de 0,01 mg/L coloca as águas em condição não apropriada para o uso, contaminação provavelmente causada por atividades antropogênicas e intemperismo do solo.

Outro estudo, realizado pela CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) sobre a qualidade das águas subterrâneas no estado de São Paulo nos anos

de 2013-2015 apontou histórico de contaminação por selênio em alguns pontos, além de apresentar contaminação por outros metais semimetais cancerígenos, como no caso do aquífero Guarani em São José do Rio Preto, no qual, níveis de selênio acima do normal são atribuídos a interferências antropogênicas no local.

### 3.3 Caracterização do selênio

#### 3.3.1 Propriedades do selênio

O Selênio (Se) é um elemento localizado no grupo 16, na família dos calcogênios e pertence ao quarto período da tabela periódica, logo, está localizado entre o enxofre e o telúrio, no qual possui características semelhantes mais aproximadas do Telúrio, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 1997). Possui número atômico 34 e massa atômica 78  $\mu$ , é um elemento de reatividade moderada e queima ao ar formando dióxidos, pode ocorrer como  $\text{Se}^{2-}$ ,  $\text{Se}^0$ ,  $\text{SeO}_3^{2-}$ ,  $\text{Se}_2\text{O}_4^{2-}$ ,  $\text{SeO}_4^{2-}$ , em água mais comumente encontrado na forma de selenato (VI) ou selenito (IV). Foi descoberto por Jons Jacob Berzelius (1879-1948), após observar depósitos vermelhos nas paredes de uma câmara de chumbo, após a produção de ácido sulfúrico (BARCELOUX, 1999).

Quadro 1: Propriedades físicas e químicas do selênio

Propriedades	Selênio (Se)					
Massa atômica relativa	78,96					
Número atômico	34					
Raio atômico	0,14 nm					
Raio covalente	0,116 nm					
Eletronegatividade (Pauling)	2,55					
Estrutura eletrônica	[Ar] 3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup> p <sup>4</sup>					
Estados de oxidação	-2, 0, (+2), +4, +6					
Massa	74	76	77	78	80	82
Abundância natural (%)	0,87	9,02	7,85	23,52	49,82	9,19

Fonte: OMS 1987.

É comumente usados em retificadores que convertem corrente alternada em contínua. Devido seu potencial fotoelétrico (converte luz radiante em eletricidade) é empregado em células fotoelétricas, células solares e fotômetros. Também é usado como corante de vidros, borrachas, esmaltes e derivados do aço. (NEVES,2006).

### 3.3.2 Linhas espectrais do selênio

Sabe-se mesmo sendo formadores de hidretos também, As, Sb, Se e Te podem existir em solução em dois estados de oxidação: As (III) e As (V), Sb (III) e Sb (V), Se (IV) e Se (VI), Te (IV) e Te (VI). Dependendo do estado de oxidação, as espécies podem apresentar diferença na velocidade de redução (quanto mais alta a oxidação, mais lenta a redução), podendo estes elementos existirem ligados a diferentes radicais orgânicos, o que pode levar a cinéticas de redução distintas, logo, várias espécies de hidretos são separadas por volatilização seletiva (alcançando o atomizador em tempos distintos, relativos a cada espécie). O pH do meio também influencia, tendo em vista que diferentes espécies são reduzidas em valores específicos de pH (TAKASE, 2002).

### 3.3.3 Ocorrência no ambiente

Como vimos no quadro anterior, segundo a OMS (1997) o selênio é um elemento que existe naturalmente em quatro estados de oxidação (0, -2, +4, +6), isso porque o +2 não é encontrado no ambiente, o que deixa claro que, a sua disponibilidade vai depender da forma química que se encontra. Por exemplo, o selênio no estado +6 (selenato) é estável em condições alcalinas e oxidantes, devido a isso ocorre em solos alcalinos onde é solúvel e totalmente disponível para plantas, também é conhecido por sua alta toxicidade para sistemas biológicos mesmo em poucas concentrações (OMS, 1997). Já o selenito (selênio no estado +4), ocorre naturalmente no ambiente, no entanto, em soluções alcalinas ele tende a oxidar para o estado +6, se o oxigênio estiver presente. O selênio  $\text{Se}^{-2}$  (selenetos), são espécies reativas e tóxicas, e rapidamente oxidadas a  $\text{Se}^0$ , que na forma orgânica é a espécie mais biodisponível para os organismos (SEIXAS, 2007). As principais fontes de selênio são, todavia, os minérios de cobre, dos quais o selênio é recuperado como



subproduto nos processos de refinação eletrolítica. Os maiores produtores mundiais são os EUA, Canadá, Suécia, Bélgica, Japão e Peru (JÚNIOR, 2008).

Quadro 2 : Características dos compostos de selênio

Nome	Fórmula	Característica
Selenetos	Se <sup>2-</sup>	É encontrado em ambientes redutores, ex. solos, sedimentos. Forma complexos metálicos e é altamente imóvel.
Dimetilseleneto	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Se	Gás formado pelas bactérias e fungos do solo.
Dimetilselenona	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SeO <sub>2</sub>	Metabolito volátil, possivelmente formando como um intermediário antes da redução a metilseleneto.
Seleneto de hidrogênio	H <sub>2</sub> Se	Gás, instável em ar úmido; decompõe-se em Se <sup>0</sup> em água.
<i>Selênio elementar (0)</i>	Se <sup>0</sup>	Estável em ambientes redutores
Selenito (+4)	SeO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Forma solúvel, comum em condições suavemente oxidantes como solos e partículas de ar.
Trimetilselenônio	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> Se <sup>+</sup>	É um importante metabólito urinário da dieta, torna-se rapidamente não-disponível devido sua fixação pelas plantas e volatizarão.
Ácido selenoso	H <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	É protonado em condições ácido/neutro. É facilmente reduzido a Se <sup>0</sup> pelo ácido ascórbico ou dióxido de enxofre em ambientes acidificados por microrganismos.
Dióxido de selênio	SeO <sub>2</sub>	Gás formado como subproduto da queima de combustíveis fósseis (temperatura de sublimação, 300 °C).
<i>Selenato (+6)</i>	H <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>	É estável em ambiente oxidados, é muito móvel em solos, estando prontamente disponível para as plantas, lentamente convertido as formas mais reduzidas

Fonte: SEIXAS, 2007.

### 3.3.4 Efeitos biológicos

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS,1997), mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo podem ter deficiência desse micronutriente, tendo em vista que é considerado um elemento essencial no qual anteriormente, acreditava-se que o selênio era apenas um elemento substituto da vitamina E, logo mais, através de

experimentos com aves que confirmaram o selênio como um elemento essencial, tendo em vista que animais que tinham uma dieta pobre em selênio apresentavam baixo crescimento e maior mortalidade mesmo com níveis adequados de vitamina E (Seixas, 2007). Logo, o selênio é indispensável para a manutenção da vida humana, ao mesmo tempo que também pode ser considerado tóxico, o que depende dos níveis de concentração no qual se encontra no organismo.

Este elemento é um constituinte das enzimas glutathione peroxidase, a qual dispõe células de proteção contra doenças oxidativas (GALLIGNANI et al., 2000), também faz parte das seleno-proteínas e participar dos sistemas imunológicos. (ZARCZYNSKA, 2013).

A OMS (1997) propõe que as fontes naturais fornecem selênio para o meio ambiente, no entanto, as fontes manipuladas pelo homem (antropogênicas) é que são responsáveis pela redistribuição dele no meio, processos como industriais (indústria de refinamentos de cobre e equipamentos eletrônicos) e agricultura (uso de fertilizantes) são responsáveis por essa redistribuição. Logo, a concentração de selênio no corpo humano está diretamente ligada às condições do solo, composição da água disponível para o consumo, tipo de alimentos consumidos e o preparo dos mesmos, isso porque estudos apontam que os níveis de concentração de selênio em alimentos integrais são maiores que em outros mais processados (OMS, 1997), ou seja, os níveis de selênio podem variar conforme o solo de cada região, podendo ser encontrado facilmente em cereais, carnes, vegetais entre outros.

A deficiência de selênio numa dieta alimentar pode causar cardiopatias severas, distrofia muscular e desordem na reprodução em várias espécies de animais (ALEIXO, 2000), ao mesmo tempo em que, o consumo de altos níveis de selênio pode também ocasionar selenose e intoxicação, o que provoca entre outras reações, gosto metálico na boca, fragilidade em cabelos e unhas (OMS 1987). O que torna essencial sua determinação, considerando o curto intervalo entre toxicidade e o essencial para sobrevivência (COELHO, 2004).

Isso porque, muitas vezes, uma certa população pode estar exposta a uma determinada substância nociva e não apresentar problemas de saúde, como é o caso de algumas comunidades ribeirinhas dos rios Madeira (AM) e Tapajós (PA), que estão expostas a mercúrio por meio do elevado consumo de peixe (região afetada fortemente pelo garimpo ilegal), não apresentam sinais ou sintomas da síndrome neurológica causada por envenenamento por mercúrio (Doença de Minamata) (SILVA,

2011). Alguns pesquisadores sugerem que isso seja devido à atuação do selênio, encontrado em castanhas e outras fontes naturais que formam a dieta alimentar dessas comunidades (CHOIL ET AL. 2008; FONSECA ET AL. 2007, 2008; LEMIRE ET AL. 2011).

Tabela 1: Necessidades diárias de selênio

Estágio da vida	RDA/AI	UL
	Dose diária recomendada/Ingestão adequada( $\mu\text{g}/\text{dia}$ )	Limite máximo de ingestão ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ )
1-3	20	90
4-8	30	150
9-13	40	280
>14	55	400
Gravidez	60	400
Lactação	70	400

Fonte: Dietary Reference Intakes: Recommended Intakes for Individual Elements, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies, 2004.

Como já relatado, não somente em alimentos, mas em água, no qual o selênio está presente como um de seus constituintes, em condições naturais, a concentração de selênio na água varia geralmente de 0,3  $\mu\text{g}/\text{L}$  a 3,0  $\mu\text{g}/\text{L}$  e as propriedades organolépticas da água podem ser afetadas a partir de 10 a 25  $\mu\text{g}/\text{L}$  (devido seu forte odor) (RIBEIRO, 2005).

Quadro 3 : Quantidade de selênio em alimentos

Fontes Alimentares	Quantidade do alimento	$\mu\text{g}$ de Selênio
Castanha do Brasil	30g (6 a 8 nozes)	544
Atum em óleo	90g	63
Ostras cruas	84g	56
Camarão conserva	85g	40
Salmão	90g	40

Caranguejo	90g	40
Bife de porco	90g	33
Bacalhau cozido	90g	32
Fígado	85g	28
Bife de vaca	90g	17
Ovo médio inteiro	1 unidade	14
Batata cozida sem pele	1 unidade	1

Fonte: lusíadas knowledge center.

#### 4. TÉCNICA ANALÍTICA

A espectrometria atômica é quando uma substância pode ser decomposta em átomos em altas temperaturas através do uso atomizadores eletrotérmicos como: forno, chama ou plasma (HARRIS, 2007). Atomização é a primeira etapa do método espectrométrico, onde o analito se decompõe em átomos ou íons numa fase gasosa, nessa fase é possível a separação de cada elemento analisado, podendo detectar partes por bilhão (ppb) ou partes por milhão (ppm), o que confere a técnica alta seletividade e baixos limites de detecção (SKOOG, et al., 1998).

Quadro 4: Vantagens e desvantagens da técnica ICP OES

Técnica	ICP OES
Vantagens	Altas temperaturas, com maior eficiência na atomização
	Requer pouca manutenção.
	Interferências de ionização quase nulas, devido a concentração de elétrons constante no plasma.
	Atomização em ambiente quimicamente inerte
	Temperatura relativamente uniforme

	Plasma com caminho óptico estreito, o que minimiza a auto absorção.
	Curvas de calibração geralmente lineares
Desvantagens	Não tolera solventes orgânicos, depósitos de carbono tendem a se formar no tubo de quartzo.

Fonte: SKOOG, 1998

#### 4.1 Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma de Argônio Indutivamente Acoplado (ICP OES).

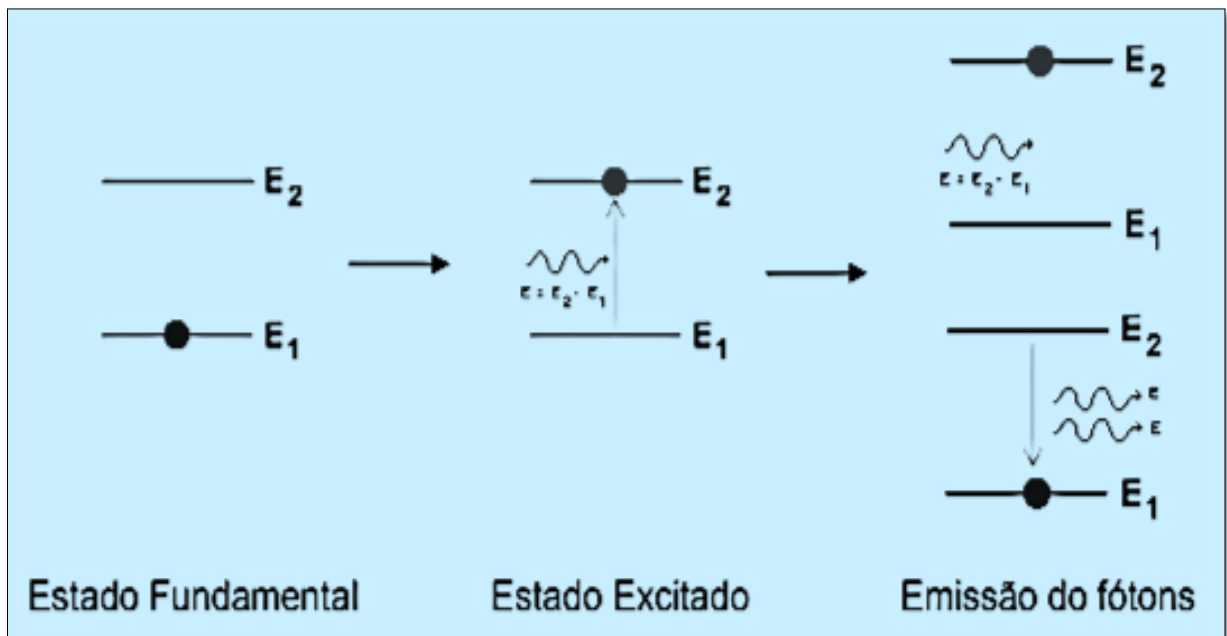
Para determinação de selênio é necessário o uso de técnicas com alta sensibilidade devido à baixa concentração do elemento nas amostras (análise em traços). A técnica mais utilizada é a espectrometria absorção atômica com forno grafite (FG-AA), no entanto cada vez mais laboratórios estão mudando seus métodos de análises para espectrometria de emissão com fonte acoplado ao plasma indutivamente (ICP OES), que permite a determinação de metais em diferentes matrizes e concentrações, além da rapidez da análise e limite de detecção menores que em outras técnicas utilizando padrões multielementares.

A técnica de ICP, é atualmente muito utilizada para determinação de metais em nível de traço, foi desenvolvida por FASSEL et al. na Universidade Estadual de Iowa, no Estados Unidos, e por GREENFIELD et al. no Reino Unido em meados dos anos 60 (MARQUES, 2015).

HOU (2000), descreve o ICP-OES como uma técnica que se baseia na emissão de fótons (Figura 1), oriundos de íons excitados pelo plasma, que é gerado por uma bobina de radiofrequência. A amostra introduzida no equipamento é convertida em aerossol, sendo direcionada para o plasma onde ocorre a excitação dos átomos, ao retornarem ao estado fundamental emitem um fóton que é por sua vez, proporcional a concentração do analito, característico de cada espécie. Através de um jogo de prisma (espelhos côncavos), uma parte dos fótons é coletada e forma uma imagem na abertura de um equipamento de seleção de comprimento de onda, que é captado e convertido em sinais elétricos por um fotodetector, os quais, através de um computador são transmitidos e processados.

É possível determinar a concentração do analito desejado, através de curvas analíticas construídas a partir da relação entre o padrão de referência e a intensidade de energia detectada no comprimento de onda indicado (MARQUES, 2015). É possível análise de muitos elementos simultaneamente, podendo ser analisadas amostras sólidas (com tratamento prévio), líquidas e gasosas, diminui o efeito matriz das amostras por alcançar altas temperaturas.

Figura 1: Processo de emissão de um fóton.



Fonte: Universidade Federal do Ceará, 2014.

A técnica ICP OES, diferente da absorção atômica não necessita de lâmpadas em seu funcionamento, realiza análise multielementar e em diversos tipos de amostras, e baseado na literatura, a emissão de radiação eletromagnética no ICP OES é possível quando um íon excitado (pelo plasma de argônio em altas temperaturas) vai para o estado energético mais baixo, liberando a energia excedente através da emissão de um fóton, a emissão de radiação resultante contém o comprimento de onda do analito desejado, essa é chamada de emissão espectral, que normalmente tem o formato de um pico de intensidade (MARQUES,2015).

Logo, pode-se dizer que o ICP é uma fonte efetiva para 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 (argônio). (THOMPSON, 1974).

Durante a quantificação do elemento pode ocorrer efeitos (interferências) que modificam o sinal emitido pelo analito, desse modo, a principal diferença entre o plasma de argônio usado em ICP e a chama usada em Absorção Atômica (AA), é que o plasma é considerado inerte, ou fonte de excitação que oferece menos interferência ou quase nenhuma, no entanto, as poucas interferências que podem ocorrer, podem ser corrigidas com ajustes instrumentais no equipamento (HARRIS, 2005).

Os sistemas óptico do ICP vem sendo aprimorado ao longo do tempo, com intuito de obter resultados mais precisos e confiáveis, um exemplo desses componentes é o emprego da visão axial do plasma, no qual a radiação emitida é focalizada pelo sistema óptico ao longo do canal do plasma, o que produz melhores limites de detecção em relação a visão radial (SILVA, 2002).

Estudos como GOFFERMANN (2015), sobre caracterização hidrogeológica e hidrogeoquímica das águas subterrâneas da região de São Gabriel-RS, relata que parâmetros analisados para selênio registram concentrações muito baixas, na maior parte dos casos inferiores ao limite de detecção dos métodos analíticos, tendo em vista que, dificilmente haverá ausência de selênio nas águas subterrâneas, visto que elementos como esse, possuem boa afinidade com matéria orgânica, abundante nos folhelhos betuminosos da formação Irati e folhelhos carbonosos da formação Rio Bonito.

O que pode caracterizar que a técnica convencional de análise de selênio em ICP, não é o suficiente para detecção do analito, necessitando otimização do processo, tal melhoramento pode ser alcançado introduzindo um gerador de hidretos no processo analítico, no Quadro 5, estão algumas vantagens e desvantagens da técnica.

## 4.2 Instrumentação do ICP OES

### 4.2.1 Fonte de plasma

Segundo GINÉ (1998), pode-se definir o plasma do ICP como descargas elétricas em forma de gases, parcialmente ionizados, no qual há elétrons livres e íons positivos em constante movimento, ocorrendo assim uma transferência de energia por indução.

Os íons de argônio, após serem formados no plasma, são capazes de absorver potência suficiente de uma fonte externa para manter sua temperatura, de forma que a ionização adicional é capaz de sustentar o plasma indefinidamente, o que o torna a principal espécie que realiza o transporte de amostra para dentro do plasma (SKOOG, et al., 1998).

Podendo o plasma alcançar temperaturas de até 10.000K, o que o torna bem mais quente que a chama e o forno convencional, podendo dissociar qualquer tipo de amostra é isolado termicamente do cilindro de quartzo, através de um fluxo de argônio nas paredes do tubo, que resfria as paredes internas e centralizando o plasma (SKOOG, et al., 1998).

Figura 2: Plasma do equipamento OPTIMA 8000 PerkinElmer



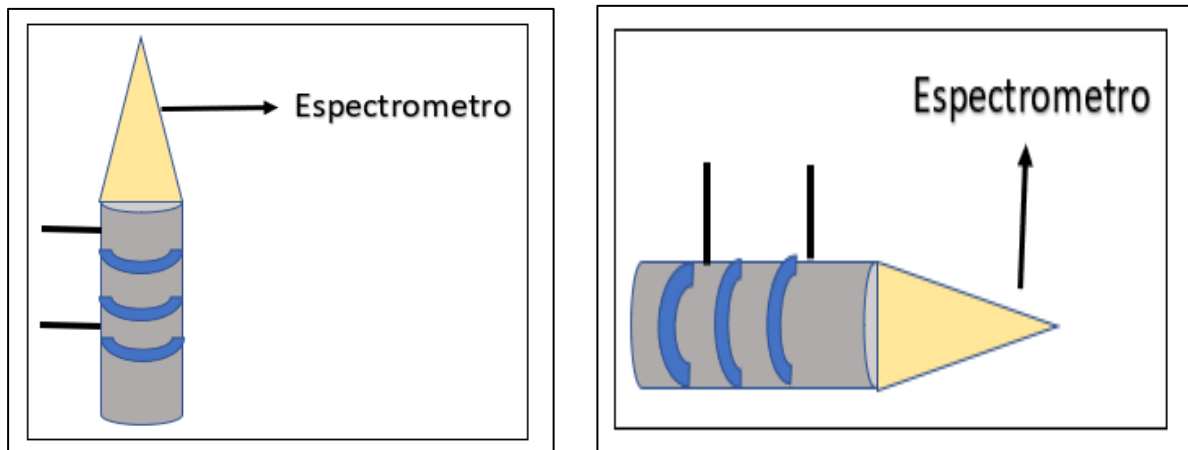
Fonte: Autora

#### 4.2.2 Configuração do plasma

O plasma pode ser observado em configuração radial (figura 3a), também pode ser observado em ângulos retos denominado visão axial (figura 3b), nessa configuração os íons podem ser extraídos facilmente no topo da tocha, para o interior da região, A geometria radial fornece melhor estabilidade e precisão, enquanto a geometria axial é usada para se obter limites de detecção mais baixos (SKOOG, et al., 1998).



Figura 3: Observação do plasma em configuração radial (3a) e axial (3b)



Fonte: Autora

#### 4.2.3 Introdução da amostra no ICP OES

Comumente a amostra é introduzida no equipamento em forma de aerossol por nebulizadores convencionais, usando argônio. Em alguns casos, as amostras podem ser convertidas separadamente em vapor por um gerador de hidretos, por exemplo (SKOOG, 1998), toda via, THOPNSON (1998), descreve que o sistema de geração de hidretos apresentou limites de detecção maiores que os nebulizadores comuns, tornado esse, um dos motivos da introdução do gerador de hidretos para otimização da metodologia de análise de selênio em ICP OES.

##### 4.2.3.1 Gerador de hidretos

Compostos de hidrogênio, onde ele se encontra como um íon mais eletronegativo, são chamados de hidretos. Estudos realizados por CADORE e BACCAN (1998), apontaram que houve perda de sinal de intensidade de amostras preparadas com água deionizada em comparação com amostras preparadas com ácido clorídrico (HCl), o que evidencia a necessidade da presença do ácido para formação de hidretos e redução do selênio. Atualmente o redutor mais utilizado é o Borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ).

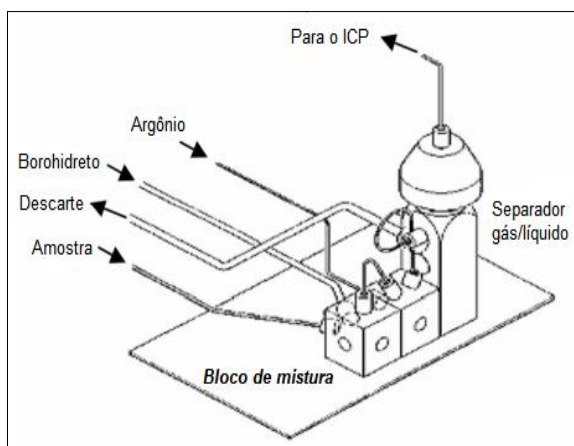
A técnica de gerador de hidretos (HG) evita as interferências do efeito matriz na análise de selênio. Para a formação do hidreto o íon selênio deve estar no seu estado mais baixo de oxidação. (FERRER et.al, 1999).

O procedimento de preparação da amostra precisa ser cuidadosamente selecionado para prevenir a perda de compostos de selênio durante a decomposição, pois essas ocorrem a partir de 200°C (ALEIXO, 1999), afetando a sensibilidade do equipamento. A confiabilidade dos resultados é extremamente importante em uma análise quantitativa, sobretudo quando se trata de água subterrânea utilizada para o consumo humano.

THONPSOM e colaboradores (1998) realizam a determinação simultânea de alguns elementos, tais como, arsênio, telúrio, selênio, bismuto, e estrôncio, através de um sistema de geração de hidretos acoplado ao ICP OES, esse sistema apresentou maior limite de detecção que as análises com sistema de nebulização convencional, de lá pra cá, muitos outros estudos comparativos vem sendo realizado, confirmando que para elementos que formam hidretos, o sistema de HG é mais apropriado que o sistema de nebulização mais comumente usados. O ácido selenoso Se(VI) é instantaneamente convertido pelo reagente Borohidreto de sódio em soluções ácidas em seus hidretos. Hidretos são purgados continuamente por argônio em uma célula de quartzo aquecida eletricamente e convertidos em átomos de fase gasosa.

As análises deste trabalho serão realizadas em ICP OES OPTIMA 8000 da Perkin Elmer, com monocromador duplo, vista dupla automática da tocha e detector do tipo backside-illuminated charge-coupled device (DBI-CCD) usando bloco de misturas (gerador de hidretos Chimefol PerkinElmer) (figura 4), onde a amostra é passada através de um bloco de mistura, a amostra e Borohidreto são misturados, em seguida os gases hidreto são separados do líquido, passando por uma câmara de pulverização antes de entrar no plasma.

Figura 4: Esquema de funcionamento bloco de misturas Chimefol - PerkinElmer (gerador de hidretos), adaptado.



O sistema de geração de hidretos do Laboratório de Análises Mineraiis-CPRM- Manaus, é um bloco de mistura, composto por um rotâmetro, uma bobina de reação e um separador de fases, nesse sistema uma solução de borohidreto de sódio e a amostra acidificada, são bombeadas continuamente, por tubos, através de uma bomba peristáltica, que auxilia o fluxo seguir em direção ao plasma.

Estas soluções confluem e passam por uma bobina de reação, onde se dá o contato entre a amostra e um agente redutor são continuamente bombeados e misturados, deste modo ocorre a geração de hidretos, o argônio então é adicionado à mistura para transportar os gases de hidreto para o plasma. Em seguida a solução é introduzida em um separador de fases em que a fase gasosa, que contém os hidretos, é separada da fase líquida que é descartada.

Um fluxo de argônio, controlado pelo rotâmetro, introduz os hidretos gerados diretamente no plasma do ICP-OES, onde ocorre a excitação dos átomos, enquanto a fase líquida é descartada. O modelo OPTIMA 8000 é designado para determinação de metais em água, este equipamento possibilita a criação de diferentes métodos para determinação de diferentes metais, arquivo de informações de amostra, verificação dos espectros e acompanhamento dos resultados das análises em tempo real.

O ICP-OES juntamente com o gerador de hidretos (HG), torna possível a efetiva separação entre o selênio e a matriz, o que requerer um pré-tratamento da amostra, sendo necessário o controle do estado de oxidação e, conseqüentemente, das condições de decomposição ácida (ALEIXO, 1999). O ICP OES pode ser otimizado em conjunto com gerador de hidretos (HG) o que se torna essencial para melhoria da sensibilidade do transporte dos analitos, através dessa técnica o Se (Quadro 6) que é um dos elementos que formam hidretos mesmo em baixas concentrações, é capaz de ser quantificado através de soluções de hidretos.

Quadro 5: Melhorias com o uso do gerador de hidretos

<b>MELHORIAS COM O USO DO GERADOR DE HIDRETOS</b>
Melhoria na seletividade e sensibilidade
Melhoria no transporte do analito, maior eficiência no transporte

## Redução das interferências espectrais e químicas

Este trabalho visa a otimização de um método para análise de selênio em ICP OES usando HG (Gerador de Hidretos), e sua posterior a validação, correlacionando a resposta do analito ao método proposto e os resultados que serão obtidos e forem adequados para determinação de selênio em água subterrânea.

### 4.2.3.2 Agente pré-redutor

O selênio encontra-se como padrão no estado Se (VI), para que ocorra formação de hidretos, é indispensável que ocorra a redução do selênio (VI) para selênio (IV), para isso é necessário o uso de agente pré redutor durante a etapa que antecede a redução do selênio. Comumente é usado para redução do selênio agentes que apresentam melhor resultado são HCl e HBr (GALLIGNANI et al., 2000). Para esse estudo utilizou-se o HCl como agente pré-redutor, isso porque ele também pode ser usado como meio reacional para geração de hidretos. A reação redox de Se (VI) a Se (IV) pelo cloreto pode ser descrita pela equação abaixo (ZAPELINI, 2014).



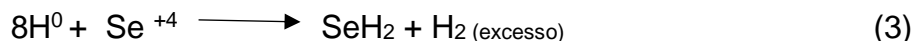
### 4.2.3.3 Agente redutor

Como já comentado anteriormente, a dificuldade de análise do selênio, mesmo utilizando ICP é desafiadora, isso por conta de níveis de selênio muito baixos nas amostras, porém, é possível aumentar a sensibilidade de selênio quando convertido para sua espécie de hidreto de fase gasosa por meio das reações:

Nesta técnica a amostra é misturada com um agente redutor (borohidreto de sódio) que produz hidrogênio atômico (equação 2). Em solução aquosa e alcalina, borohidreto é um redutor forte (TAKASE, 2002; MORETTO, 2001; ZAPELINI, 2014):



Logo, esse hidrogênio reage com Se, formando hidretos voláteis (equação 3) (TAKASE, 2002).



No entanto, hoje sabemos que o mecanismo de formação do hidreto ocorre através da ação do hidrogênio ligado diretamente ao boro, por formação de alguns intermediários (chamados de hidroboranos), com uma sequência de rearranjo até que se consuma toda espécie disponível, de acordo com a seguinte reação (D'ULIVO apud MACEDO, 2010):



Onde: "A" representa a espécie de interesse.

O uso de soluções redutoras de  $\text{NaBH}_4$ , estabilizadas em meio alcalino é baseada na produção de hidrogênio, a partir da reação de Borohidreto ( $\text{BH}_4^-$ ) com um ácido, como já mencionado anteriormente, o ácido clorídrico (HCl) é o pré redutor mais indicado (BRAMAN & FOREBACK, 1973). A decomposição do  $\text{BH}_4^-$  em meio ácido é muito rápida (DEDINA e TSALEV, 1995), o que resultará na rápida redução do analito contido na solução da amostra.

O agente redutor (espécie que fornece elétrons em uma reação de oxirredução) Borohidreto de sódio, por geração rápida de hidretos elementares em uma célula de reação apropriada, minimiza a diluição dos hidretos pelo gás transportador e fornece determinações rápidas e sensíveis de selênio (Standard Methods, 2011). No entanto,

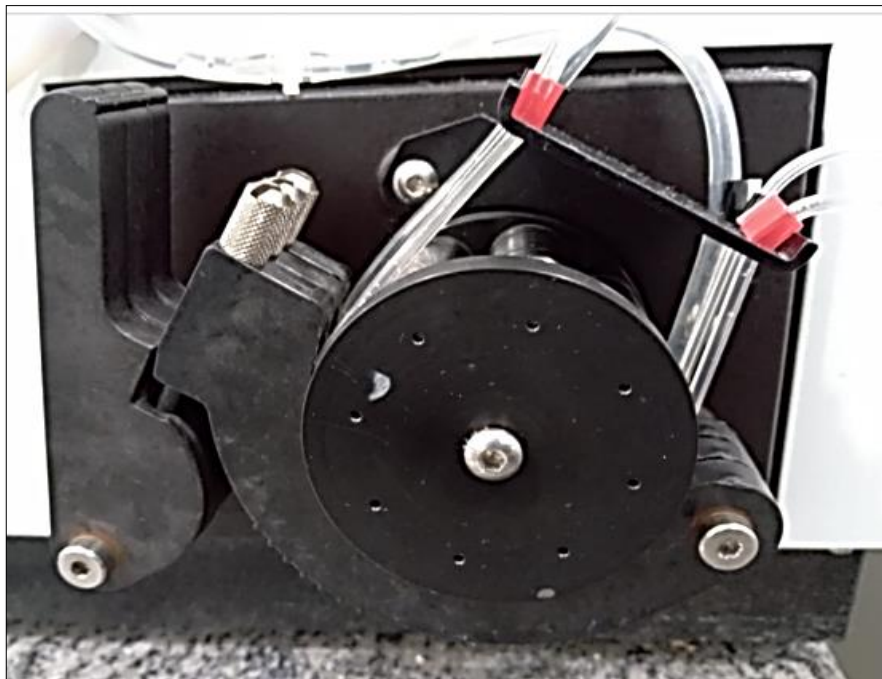
a geração de hidretos deve ser feita com cautela, isso porque segundo FENG et. al. (1998), o excesso de hidretos pode causar a extinção do plasma, o que causa o não funcionamento do equipamento.

A otimização da concentração de  $\text{NaBH}_4$  para a geração de hidretos vem sendo estudada por diversos autores ao longo dos anos, e todos os estudos comprovam que altas concentrações do agente redutor, apesar de aumentar o sinal do analito, tornam a reação mais turbulenta, devido à grande produção de  $\text{H}_2$ , resultando em uma pobre reprodutibilidade da análise e altos valores de branco analítico, além de ocorrer perturbação no plasma e o mesmo não se sustentar.

#### 4.2.3.4 Bomba

A bomba peristáltica (Figura 5) é uma muito utilizada no ICP, pois assim como alguns nebulizadores convencionais, o gerador de hidretos necessita que a amostra seja bombeada até chegar a ele, devido a isso o fluxo da vazão será mantido pelo bombeamento controlado e não dependerá dos parâmetros da amostra (BOSS, et al. 1997).

Figura 5: Imagem real da bomba peristáltica usada durante a pesquisa.



Fonte: Autora

#### 4.2.3.5 Monocromador/Policromador

Pode-se dizer que o monocromador é um dispositivo para decompor a radiação policromática em seus comprimentos de onda, específico para cada analito, ou seja, tem a função de selecionar a faixa de espectro de emissão de luz, isso fará com que somente a banda de comprimento de onda do(s) analito(s) desejado, seja detectada e medida (SKOOG, et al., 1998).

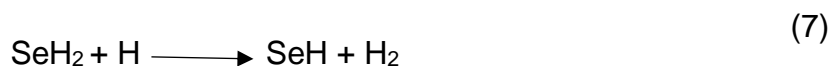
#### 4.2.3.6 Atomização/ ionização dos elementos

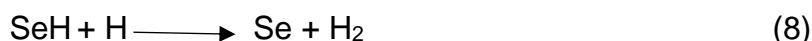
A atomização é o processo no qual uma amostra é convertida em átomos e íons em fase gasosa. No momento que os átomos e íons do analito atingem o ponto de observação no plasma, eles já permaneceram por cerca de 2 milissegundos no plasma, com temperatura na faixa de 6.000 a 8.000 K, essas altas temperatura influenciam na boa eficiência da atomização, reduzindo as interferências químicas, quando comparado a outros sistemas de medição, além de ocorrer em um ambiente quimicamente inerte (SKOOG, et al., 1998).

Traços de oxigênio parecem desempenhar papel importante na formação dos radicais H, embora o mecanismo de formação de radicais H, não seja tão claro, o que podemos observar nas seguintes reações (TAKASE, 2002):



Através da interação dos hidretos com os radicais H, ocorre o mecanismo de atomização, logo, para o selênio ocorrerem ainda as seguintes reações (TAKASE, 2002).





#### 4.3 Interferentes

Como já explanado anteriormente neste trabalho, a geração de hidretos contribui para minimizar as interferências, uma vez que, somente apenas o analito desejado forma espécie volátil, este passa a ser o único componente da amostra a ser transferido para a célula de atomização, ou seja, há uma separação prévia da matriz reduzindo interferências (TAKASE, 2002). Os efeitos de interferências de ionização são quase nulos no ICP, devido o plasma manter uma concentração quase que constante de elétrons em seu interior (SKOOG, et al., 1998). No entanto matrizes com constituintes orgânicos são interferentes em potencial, pois interferem na liberação do hidreto de selênio (TAKASE, 2002).

Interferências na fase gasosa também são bastante comuns, e se manifestam principalmente pelo efeito memória persistente, podendo ocorrer na linha de transporte ou no atomizador, além de ocorrer no volume morto do frasco de reação. A interferência no transporte que ocorre ao longo do transporte do hidreto já liberado para o atomizador, excesso de um elemento formador de hidretos pode levar a queda do sinal analito além de atraso na detecção do sinal (TAKASE,2002).

Interferências espectrais são mais comuns na emissão atômica que nas outras técnicas, isso ocorre devido a variedade de linhas do espectro gerado, o que é praticamente anulada devido a geração de hidretos, devido a separação do analito da matriz, a maior temperatura do plasma moléculas de As, Te, Sn não ocorrem como na absorção atômica, se grandes quantidades desses elementos estiverem presentes na amostra os hidretos destes elementos são gerados com o hidreto de selênio e apresentam bandas moleculares na linha analítica do selênio.

#### 5. VALIDAÇÃO METODOLÓGICA

Para garantir a confiabilidade do método é necessária a validação dos mesmos, antes de implementá-los na rotina do laboratório, a fim de que se documente e



comprove que o método está sendo corretamente executado alcançado a finalidade para qual foi designado. Para a metodologia de determinação de selênio em água, a validação irá auxiliar na correção das interferências e dificuldades que o método apresenta, como: perda da sensibilidade e efeito memória, a fim de que sejam alcançados resultados confiáveis e precisos.

Portanto, este estudo visa melhorar a metodologia para determinação de selênio por ICP OES usando gerador de hidretos, em colaboração científica com o Laboratório de Análises Mineraias (LAMIN) da Companhia de Pesquisa de Recursos Mineraias (CPRM- Base Manaus) que dispõe dos equipamentos e recursos necessários para as análises e que enfrenta a alta demanda de análise de selênio em águas subterrâneas, porém encontra durante as análises dificuldades já relatadas neste trabalho.

Para validação, os ensaios devem seguir os seguintes parâmetros conforme a pretensão final.

Quadro 6 : Parâmetros de validação conforme o tipo de ensaio

Parâmetros	Tipos de ensaio			
	Quantitativo	Determinação de analito em maior teor	Análise de elementos menores e traços	Propriedades físicas
Precisão		x	x	x
Seletividade	x	x	x	x
Tendência/recuperação		x	x	x
Robustez	x	x	x	x
Sensibilidade/linearidade/faixa de trabalho		x	x	x
Limite de detecção	x		x	

Limite de quantificação			x	
----------------------------	--	--	---	--

Fonte: DOQ CGCRE 008, 2020.

Para análise de selênio que é um elemento em traço (em água subterrânea), devido sua baixa concentração, conforme o quadro acima, baseada no DOQ CGCRE 008 deverão ser realizadas as avaliações de precisão, seletividade, tendência/recuperação, robustez, sensibilidade/ linearidade/ faixa de trabalho, limite de detecção e limite de quantificação além da incerteza de medição para que o método seja validado.

### 5.1 Seletividade

Para que a influência da matriz na curva analítica seja avaliada, é necessário empregar o teste de seletividade, isso porque esse teste verifica o quanto o método consegue distinguir o analito desejado de demais interferentes ou outros analitos, (DOC- CGCR-008, 2020). Para isso, comumente usa-se adição de interferentes ou amostras contendo o analito, para determinar a o nível máximo e mínimo que o analito se encontra, chamada de faixa de trabalho, podendo-se dizer assim que, o método é capaz de reproduzir resultados que sejam diretamente proporcionais a concentração do analito em uma determinada faixa de concentração (DOQ CGCRE 008, 2020).

### 5.2 Linearidade

Esse teste visa verificar se o método corresponde proporcionalmente a concentração do analito na amostra (DOQ-CGCRE-008, 2020).

Pode-se obter a linearidade pelo cálculo da concentração do analito em uma amostra real. Obtendo-se a seguinte equação:

$$y = a + b \cdot x \quad (9)$$

sendo:  $y$  = resposta medida (intensidade do sinal).

$x$  = concentração do analito.

$a$  = interseção com o eixo  $y$ , quando  $x = 0$  (coeficiente linear);

$b$  = inclinação da curva analítica = sensibilidade(coeficiente angular).

Para determinar se o método é linear calculando-se pela regressão linear através da intensidade do analito, verificando sempre que, não existem valores fora do que se espera, usando-se o teste de Grubbs, também, pode-se avaliar a linearidade através do teste F (F-Snedecor) na análise da variância (ANOVA) da regressão. No gráfico de resíduos, deve também ser observado, verificando-se o comportamento aleatório dos resultados(INMETRO - DOQ-CGCRE-008, 2020).

### 5.3 Limite de quantificação (LQ)

O limite de quantificação é a menor quantidade de analito que pode ser quantificada de maneira precisa. Geralmente determina-se como LQ, a menor concentração da curva analítica, e para verificar a se a recuperação é satisfatória, faz-se o teste com amostras reais com concentração próximas ao limite de quantificação(INMETRO - DOQ-CGCRE-008, 2020).

É possível determinar o LQ através do branco da amostra com adições da menor concentração aceitável do analito, pode ser estimado também pela equação 10:

$$LQ = b + (10).s \quad (10)$$

Onde:  $s$ : Desvio padrão da resposta do branco

$b$  : É a média dos valores do branco.

10: O número de replicatas.

### 5.4 Limite de detecção (LD)

Podemos dizer que o limite de detecção é a menor quantidade de analito detectável na amostra, o que muda conforme o tipo de amostra. É possível determinar o limite de detecção através do limite de quantificação, pode-se usar a seguinte equação (INMETRO - DOQ-CGCRE-008, 2020):

$$LD = \frac{LQ}{3,3} \quad (11)$$

#### 5.4 Recuperação

A recuperação também chamada de tendência, pode ser avaliada, entre outras formas, usando-se amostras fortificadas com quantidades conhecidas do analito (INMETRO - DOQ-CGCRE-008, 2020).

Como recuperação analítica, usa-se a seguinte equação:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{C1 - C2}{C3} \times 100 \quad (12)$$

C1= Concentração do analito na amostra fortificada

C2= concentração do analito na amostra não fortificada.

C3 = concentração do analito adicionado à amostra fortificada.

#### 5.5 Repetibilidade

Para avaliação da repetibilidade, dentre outras formas, pode-se usar adição do analito ao branco da amostra em concentrações equivalente a faixa de trabalho. É necessário adotar um número mínimo de repetições, variando entre 6 a 15 para cada nível de concentração, além de serem realizadas todas as etapas de medição para cada repetibilidade.

Para o teste de repetibilidade são necessários alguns critérios durante a execução como: o mesmo analista, o mesmo equipamento, no mesmo laboratório e em um curto espaço de tempo, determinar o desvio padrão de cada concentração (INMETRO - DOQ-CGCRE-008, 2020).

#### 5.6 Precisão intermediária

Para determinação da precisão, o teste de precisão intermediária pode ser realizado, com um número de repetições considerável pois, quanto mais replicatas o teste tiver, o método terá melhor avaliação da dispersão. Podendo ser calculada através do desvio padrão relativo(DPR) e coeficiente de variação(CV) da seguinte maneira:

$$CV = \left( \frac{DP}{CMD} \right) \times 100 \quad (13)$$

Onde: DP é o desvio padrão

CMD é a concentração média determinada.

Para este ensaio é necessário que ocorra no mínimo sete repetições, realizadas por analistas diferentes, no mesmo laboratório e por períodos diferentes, para assim, determinar o desvio padrão da reprodutibilidade intralaboratorial (INMETRO - DOQ-CGCRE-008, 2020).

### 5.7 Estimativa de incerteza de medição

Quando o valor exato do mensurado não é totalmente confiável, temos incerteza de medição. Logo, é necessária a correção do resultado da medição, valor que provém de uma estimativa de erro que possa ter ocorrido durante a medição, proveniente de efeitos aleatórios (GUM, 2008).

Para análise do desempenho do método proposto, usa-se o MRC, os valores obtidos pelo laboratório devem ser comparados aos valores do MRC, para isso podem ser usados critérios como: erro relativo e erro normalizado. Usando o desvio padrão dos resultados, e esse não estiver dentro do limite estipulado conforme o valor certificado, deve-se procurar as causas dos erros (desvio) a fim de eliminá-los (INMETRO - DOQ-CGCRE-008, 2020).

## 6. PARTE EXPERIMENTAL

### 6.1 Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água deionizada obtidas do purificador Milli-Q® Integral 5 (Merck, Darmstadt, Germany).

#### ➤ Borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) P.A

As soluções de Borohidreto de Sódio 0,2% foram preparadas poucos minutos de antecedência de cada ensaio com 1 g de NaBH<sub>4</sub> (marca Merck) em uma solução de 0,02% de NaOH 97% (marca Cinética), esta solução foi utilizada como reagente

reduzidor do selênio que, quando estabilizada em meio alcalino produz hidrogênio, a partir da reação de Borohidreto com ácido clorídrico.

- Ácido Clorídrico (HCl) 37% Suprapuro

Ácido Clorídrico (HCl) Ácido Clorídrico 37,0% - HCl – Ácido concentrado da marca Merk foi utilizado em solução de concentração 6,0mol/L no processo de acidificação e digestão de amostra como agente pré-reduzidor para o selênio.

- Solução Padrão ISO Guia 34 e ISO 17025: Solução de estoque Multi elementar (As, Be, Cd, Sb, Se) usando alíquota de 250µL para 250mL de solução.

- 

Os padrões de referências de Selênio (Se) são de concentração de 100 mgL<sup>-1</sup> da marca CPAchem. Os padrões foram diluídos de uma solução mãe 1 mgL<sup>-1</sup> juntamente com 0,7 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) e água ultrapura, avolumados para 25 mL , a fim de obter soluções de concentrações padrão conforme tabela 2 utilizados para traçar a curva de calibração e otimização no sistema de trabalho.

Tabela 2: Volumes das alíquotas para o preparo da curva de calibração.

Alíquotas (µL)	Concentração padrão (ppm)	Vol. Da solução (mL)
50	0,002	25
125	0,005	25
250	0,010	25
375	0,015	25
625	0,025	25
750	0,030	25

- Solução de trabalho

As soluções de trabalho para realização dos testes foram preparadas conforme o preparo da AC da curva de calibração, utilizando um padrão diferente do usando na

curva de calibração, uma alíquota de 375  $\mu\text{L}$  e 500  $\mu\text{L}$  da solução mãe de 1  $\text{mgL}^{-1}$ , tendo a concentração 0,015 e 0,020 ppm respectivamente.

## 6.2 Instrumentação

O método de análise para determinação de selênio por geração de hidretos baseado no manual de Conceitos, Instrumentação e Técnicas em espectroscopia de emissão em plasma indutivamente acoplado-1997 e Standard Methods 3120B.

O ICP OES com visão axial da PerkinElmer OPTMA 8000 (Figura 6), de faixa de trabalho para análise do selênio é Se 196,026 nm, equipado com gerador de hidretos (Bloco de mistura Chimefol), constituído de uma base de acrílico, um rotâmetro e um separador de fases, e amostrador automático modelo AS93plus ambos também da PerkinElmer.

Tais itens, foram utilizados para as análises, estando instalados no Laboratório de Análises Mineraias (LAMIN) que faz parte da rede de laboratório do Serviço Geológico Brasileiro (CPRM) base Manaus, bem como os demais procedimentos como preparo de soluções, padrões, gás entre outros materiais utilizados (exemplo: capelas, vidrarias, chapa aquecedora, entre outros que se fizerem necessários), foram realizadas neste laboratório.

No sistema também foi utilizado gás argônio com 99,998% de pureza, nitrogênio com 99,998% de pureza e ar comprimido seco livre de óleo.

Figura 6: ICP OES com visão axial PerkinElmer OPTMA 8000



Fonte: Autora

Figura 7: Amostrador automático modelo AS93plus-PerkinElmer.



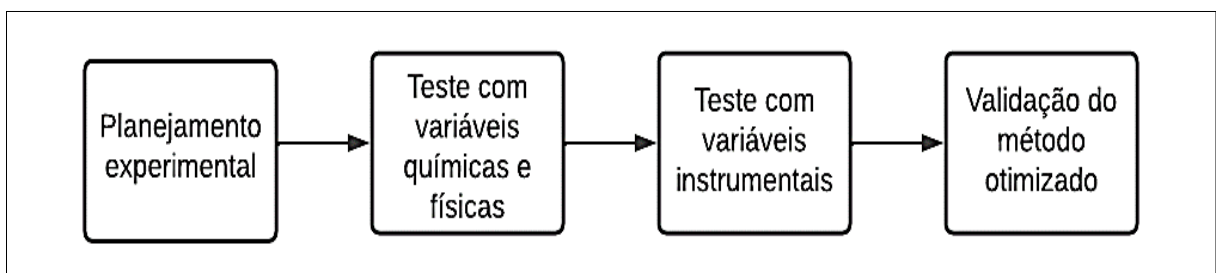
Fonte: Autora

### 6.3 Otimizações do sistema HG-ICP OES

Para a otimização da técnica analítica, foram verificadas as variações, fazendo uso de um planejamento experimental para avaliar as melhores condições de otimização dos parâmetros químicos (concentração de HCl), físicos (temperatura e tempo de digestão), e instrumentais (vazão do gás, vazão da amostra e tempo de limpeza do sistema).

Tendo em vista que, através desse planejamento podemos visualizar a interação que existe entre as variáveis, verificando influência delas no resultado, e assim determinar as melhores condições de trabalho, verificando-se a intensidade obtida e comparando os resultados, como mostra a sequência do diagrama 1.

Diagrama 1: Sequência do planejamento experimental.



Foram testadas 3 variações químicas/físicas diferentes a fim de se obter os melhores resultados de geração de hidretos, verificando se as intensidades obtidas foram iguais ou maiores em relação ao método já utilizado para determinação de



selênio. Realizou-se o planejamento fatorial  $2^3$ , produzindo 20 experimentos em triplicata, totalizando 60 testes, variações apresentadas na tabela 3.

Em seguida, através de outro planejamento experimental fatorial também  $2^3$ , foram realizados 24 os testes em triplicatas com variáveis instrumentais, totalizando 72 experimentos, usando-se configurações distintas, a fim de verificar a influência das variáveis em relação as intensidades obtidas.

Por fim, estabelecidos os parâmetros químicos, físico e instrumentais mais adequados para geração de hidretos de selênio, realizou-se alguns testes de validação a fim de verificar a confiabilidade do método.

#### 6.4 Planejamento experimental

O planejamento experimental foi aplicado para obter os melhores resultados para análise de selênio em ICP OES com HG, tendo em vista buscar melhores condições para determinação de selênio em água subterrânea, visando as concentrações mais adequadas de HCl e volume de amostra para a análise, além disso, determinar as condições instrumentais ideais do equipamento como: tempo de limpeza, vazão do nebulizador e vazão do gás. O planejamento experimental foi dividido em duas fases, sendo a primeira fase composta por duas etapas, primeira etapa variáveis físicas/químicas e a segunda etapa variáveis instrumentais.

##### 6.4.1 Testes com variáveis químicas e físicas na pré redução do selênio

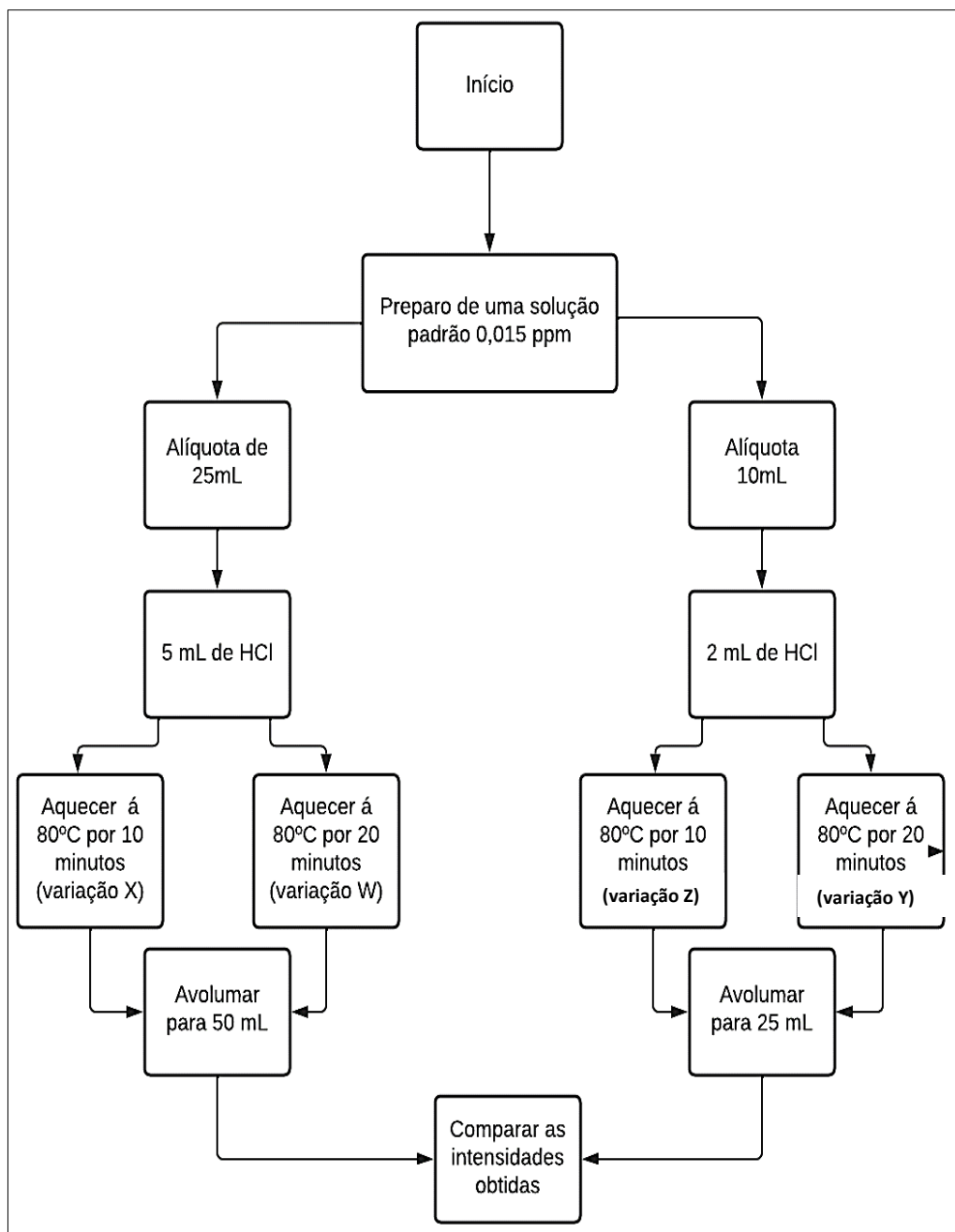
Nessa primeira fase, com o intuito de reduzir consumo de reagente durante a pré redução e ter melhor custo analítico durante a análise, um teste comparativo de volume de reagentes e de parâmetros físicos foi necessário. Realizando-se 5 testes em triplicata para 4 tipos de variações no método, denominadas de W,X,Y,Z totalizando 60 testes.

Antes do inicio dos testes foi necessária a construção de uma curva de calibração para cálculo de desvio padrão e coeficiente de correlação. Em seguida, o preparo de uma solução de trabalho de concentração 0,015ppm (concentração do meio da curva), para realização dos testes. Para o teste de procedimento padrão denominado de "W", retirou-se uma alíquota de 25mL da solução de trabalho, adicionando-se 5 mL de ácido clorídrico suprapuro (agente pré redutor), aquecendo-

se a solução por 20 minutos á 80°C em banho maria. Para a variação “X”, retirou-se também uma alíquota de 25 mL da solução de trabalho, acrescentou-se 5 mL de HCl, aqueceu-se por 10 minutos á 80°C, ao fim da etapa de pré-redução, ambas soluções foram avolumadas para 50 mL.

Nas variações denominadas “Y” e “Z”, retirou-se 10 mL da solução de trabalho, acrescentou-se 2 mL de HCl, por fim, aqueceu-se, em banho maria á 80°C por 20 minutos e 10 minutos respectivamente, sendo as duas soluções avolumadas para 25 mL após o aquecimento, conforme mostra o diagrama abaixo:

Diagrama 2: Teste com variáveis físicas e químicas



Fonte: Autora

#### 6.4.2 Teste com variáveis instrumentais

Durante a análise em HG ICP OES, sabe-se que as variáveis instrumentais que mais influenciam nas condições ideais de análise e no custo analítico são: vazão do nebulizador, vazão do gás e o tempo de limpeza.

A vazão do nebulizador vai determinar o tempo de residência do analito no centro de descarga do plasma, ou seja, usando maior fluxo de amostra, haverá maior quantidade de analito disponível para análise no centro do plasma.

O gás utilizado no ICP OES é o argônio (Ar). Por ter um com elevado custo, seu uso aumenta o valor da análise, tornando essencial a verificação do consumo desse gás durante o procedimento. Na intenção de reduzir o custo analítico, sem que haja perda na qualidade da análise além de contribuir para a redução dos poluentes gerados, o uso de um menor fluxo de gás foi empregado.

O tempo de limpeza do sistema vai melhorar a resposta do analito, certificando que o sistema está livre de impurezas que possam interferir ou dificultar a determinação do elemento. Logo, é necessário o estudo da influência do tempo de limpeza no sistema. O fluxo de limpeza evita que o equipamento reproduza o efeito memória (reprodução incerta dos resultados) causado por impurezas na matriz ou de outros elementos durante o percurso analítico.

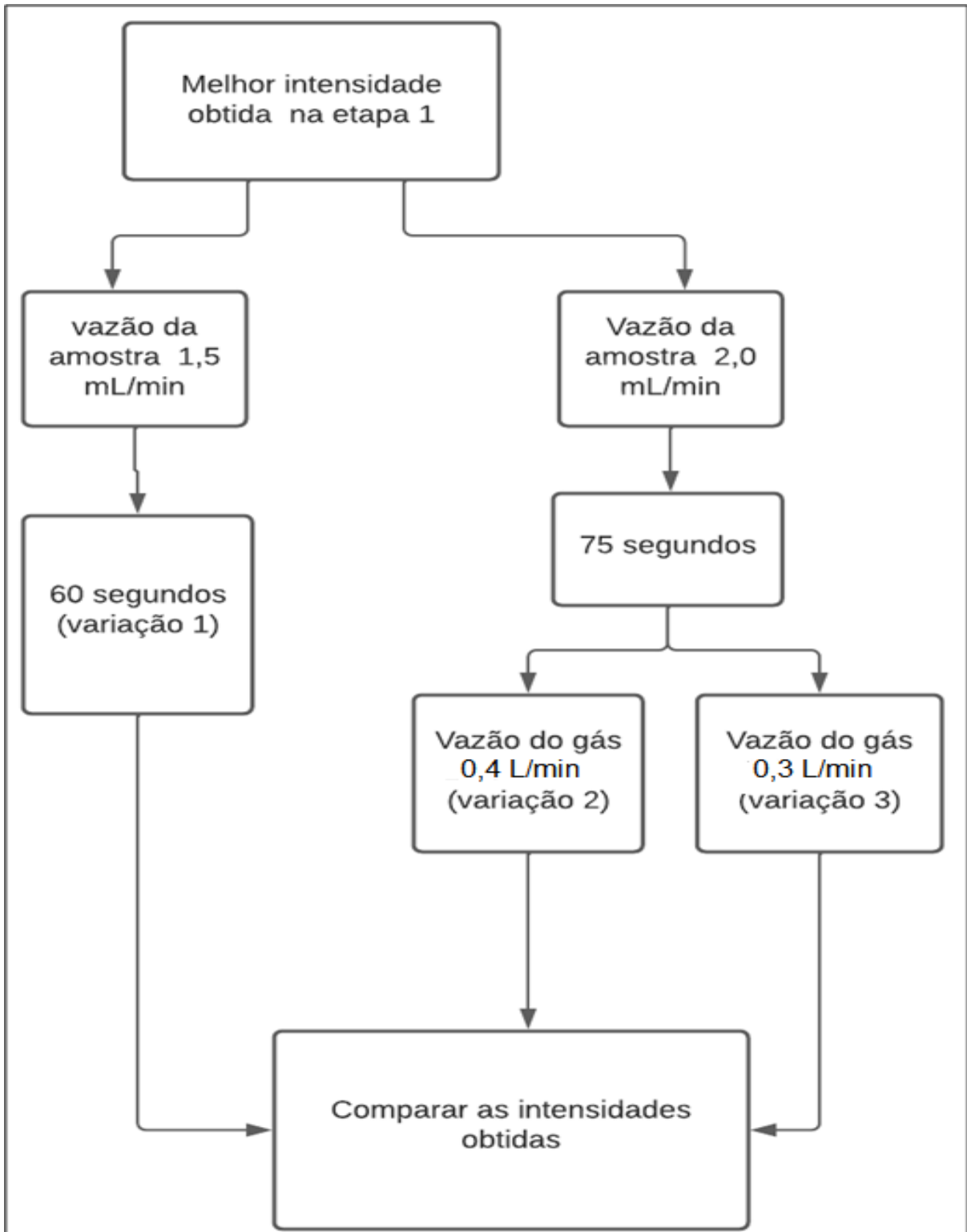
Após a determinação dos melhores valores das variáveis químicas na etapa anterior, o teste com variáveis instrumentais citadas anteriormente foi realizado. Através de três configurações distintas para o equipamento ICP OES Ópitima 8000, enumeradas de configurações 1, 2 e 3. produzindo um total de 28 amostras analisadas em triplicatas para cada configuração sugerida, resultando num total de 72 experimentos.

Para configuração 1, os padrões instrumentais do equipamento foram mantidos sendo, a vazão da amostra 1,5 mL/min, o tempo de limpeza de 60 segundos e a vazão do gás 0,4 L/min.

Na configuração 2, elevou-se a vazão da amostra para 1,75 mL/min e o tempo de limpeza para 75 segundos e a vazão do gás mantida em 0,4 L/min.

Na última configuração sugerida (configuração 3), a vazão do gás foi reduzida para 0,3 L/min, a vazão da amostra passou para 2,0 mL/min e o tempo de limpeza mantido em 75 segundos, a sequência das análises ocorreu conforme o diagrama 3, abaixo.

Diagrama 3: Teste com variáveis instrumentais



Fonte: Autora

## 7 REALIZAÇÃO DA VALIDAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO

### 7.1 Seletividade

Para verificar a seletividade do método, foram traçados os espectros das amostras e padrões, nas regiões dos comprimentos de onda ( $\lambda$ ) de emissão do elemento, com o intuito de observar o perfil dos picos de emissão e das soluções das amostras, para verificar se ocorre interferências espectrais de matriz, além de emprego de cálculos estatísticos através da razão entre as variâncias (teste F-Snedecor) dos resultados de intensidades obtidas nas amostras com e sem matriz.

## 7.2 Linearidade

A curva para o selênio foi construída com cinco níveis de concentração diferentes utilizando material de referência certificado (MRC). Para cada nível de concentração realizou-se três medidas da intensidade de emissão do Se. A linearidade do método foi observada pelo gráfico da curva analítica (sinal analítico *versus* concentração do analito). A equação da regressão linear foi calculada pelo método dos mínimos quadrados. O gráfico de resíduo também foi construído e observado se ocorrência de tendência nos dados. O coeficiente de determinação linear ( $r^2$ ) foi calculado para a curva analítica.

## 7.3 Limite de quantificação (LQ).

Realizou-se a medição de sete soluções do analito preparadas na concentração do primeiro ponto da curva de calibração. Calculou-se a recuperação da amostra de acordo com a equação 12 e coeficiente de variação (CV) de acordo com equação 13 abaixo.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{C_{\text{medida}} - C_{\text{teórica}}}{C_{\text{teórica}}} \cdot 100 \quad (12)$$

$C_{\text{medida}}$  = concentração medida em solução do analito;

$C_{\text{teórica}}$  = concentração teórica do analito na solução preparada.

$$\text{CV (\%)} = \frac{\text{desvio padrão}}{\text{média}} \cdot 100 \quad (13)$$

Usando também para confirmação do limite de quantificação a equação 14:

$$LQ = b + 10 \cdot s \quad (14)$$

s: desvio padrão da resposta do branco

b: valor médio das amostras do branco

10: o número de replicatas, quando possível, pode-se adotar o número de replicatas igual a 7.

#### 7.4 Limite de detecção (LD).

Para determinar o valor do limite de detecção usando método simplificado usou-se o cálculo:

$$LQ = 3,3 LD \quad (15)$$

#### 7.5 Recuperação

Preparar sete soluções com amostras reais contendo nível de concentração dos analitos intermediário aos níveis de concentrações da curva analítica. Obter os valores das concentrações dos elementos nas soluções das amostras pelas equações das curvas analíticas. Calcular a recuperação em ambos os casos de acordo com a equação 16:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \cdot 100 \quad (16)$$

Sendo:

$C_1$  = concentração do analito na amostra fortificada,

$C_2$  = concentração do analito na amostra não fortificada,

$C_3$  = concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

## 7.6 Repetibilidade

Obteve-se a concentração do elemento na curva analítica obtida da regressão linear a partir das medidas de emissão do analito de 20 soluções em concentração igual a 0,020 mg/L. Esse nível de concentração está dentro da faixa de trabalho e tem um valor intermediário em relação às concentrações da curva analítica.

## 7.7 Precisão intermediária

A precisão intermediária do método foi avaliada variando o dia da análise e o analista, analisando-se 21 soluções de cada analista. Obteve-se a concentração do elemento na curva analítica obtida da regressão linear a partir das medidas de emissão do analito em determinado nível de concentração. Esse nível de concentração deve estar dentro da faixa de trabalho e ter um valor intermediário as concentrações da curva analítica. Calculou-se a média, o desvio padrão, a variância e o desvio padrão da precisão intermediária.

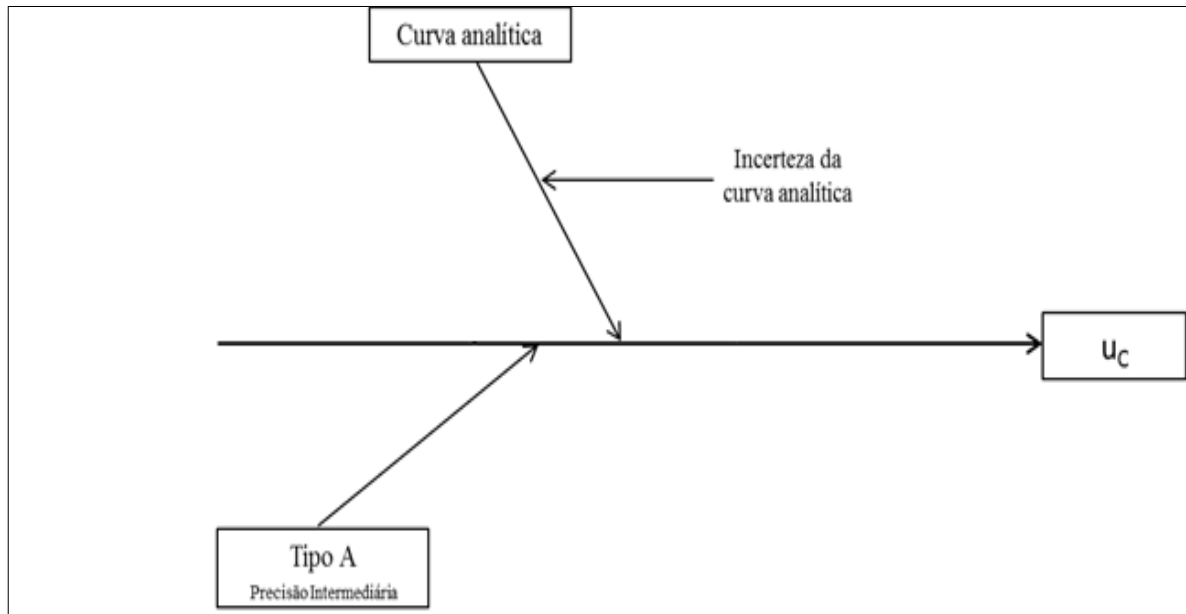
## 7.8 Incerteza de medição

### 7.8.1 Fontes de incerteza

O diagrama 4 de causa e efeito, ilustra os elementos que tiveram suas incertezas avaliadas.

- Tipo A: o maior valor de coeficiente de variação obtido para a precisão intermediária;
- Tipo B (curva analítica): incerteza da regressão linear da curva intensidade x concentração do analito;

Diagrama 4: Causa e efeito das contribuições para a incerteza de medição dos analitos na amostra.



Fonte: CPRM, 2019.

### 7.8.2 Estimativa da incerteza

#### ➤ Incerteza tipo A ( $u_a$ )

A incerteza tipo A foi proveniente dos ensaios de validação da precisão intermediária. Definiu-se essa incerteza como o maior coeficiente de variação apresentado no ensaio.

O coeficiente de sensibilidade nesse caso, uma vez que a unidade da incerteza é em porcentagem, foi definido como a concentração do analito medido na amostra.

#### ➤ Incerteza da regressão da curva de calibração ( $u_{\text{curva}}$ ).

Essa fonte de incerteza foi estimada partir das equações abaixo:

$$u_{\text{curva}} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{S_{xx}}} \quad (17)$$

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (c_j - \bar{c})^2 \quad (18)$$

Onde: s é o desvio padrão.

Onde: s é o desvio padrão.



$B_1$  é o coeficiente angular.

$p$  número de repetições para determinar  $c_0$ .

$N$  é o número de medições para a calibração.

$C_0$  é o resultado da leitura do analito na amostra

$\bar{c}$  é o valor médio das leituras dos padrões.

$c_j$  é a concentração de cada padrão.

➤ Incerteza combinada

Com base nas incertezas padrão mencionadas, apresentadas na tabela 4, calcula-se a incerteza combinada, onde o intervalo de  $\pm$  um desvio padrão ao redor da estimativa do mensurando corresponde a uma probabilidade de abrangência de aproximadamente 68%.

Tabela 3 - Fontes de incerteza e respectivas incertezas-padrão.

Descrição das fontes de incerteza	Fonte de informação	Incertezas-padrão	Tipo
Precisão intermediária	Validação	$u_a = CV \%$	A
Regressão da curva analítica	Miller, Miller, 2005	$u_{curva} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{S_{xx}}} \text{ mg/L}$	B

De acordo com a regra da adição e subtração, a incerteza padrão combinada da medição dos analitos é obtida combinando as incertezas-padrão da seguinte forma:

$$u_c = \sqrt{\frac{u_a^2}{c_{analito}} + u_{curva}^2} \text{ mg/L} \quad (19)$$

➤ Incerteza expandida

A incerteza expandida foi calculada para um intervalo de confiança de 95%. O grau de liberdade efetivo,  $\nu_{\text{eff}}$ , é calculado de acordo com a equação seguinte:

$$\nu_{\text{eff}} = \frac{u_c^4}{\sum \frac{u_i^4}{\nu_i^4}} \quad (20)$$

O fator de abrangência  $k$  é obtido a partir dos graus de liberdade efetivos da incerteza dado pela distribuição t-Student com 95% de confiança. A incerteza expandida, portanto, é dada por:

$$u_{\text{exp}} = k \cdot u_c \text{ mg/L} \quad (21)$$

## 7.9 Desempenho analítico

### 7.9.1 Curva analítica

Soluções de concentração 0,002 mg/L; 0,005 mg/L; 0,010 mg/L; 0,015 mg/L; 0,025 mg/L; 0,030 mg/L preparadas a partir da solução mãe padrão multielementar 1 mg/L, todas as soluções foram previamente acidificadas com 0,7 mL de ácido nítrico. A curva de calibração foi usada para traçar a reta e realizar os cálculos de desvio padrão e de coeficiente de correlação (ANEXO I).

## 8 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 8.1 Otimização do sistema HG ICP OES

Bem como já descrito nos objetivos, o resultado esperado é propor um método aceitável para análise de selênio usando ICP OES com gerador de hidretos, de tal forma que, no decorrer das análises, não perca a sensibilidade do equipamento, e que a determinação do analito, seja viável quanto ao gasto de reagentes e tempo de análise,

gerando menor quantidade de resíduos e degradação ao meio ambiente. Na tabela 3 é possível comparar parâmetros das técnicas de nebulizador ultrassônico (método convencional para a determinação) e o gerador de hidretos.

Tabela 4: Comparação entre os parâmetros usados na técnica nebulizador ultrassônico e gerador de hidretos.

<b>.Condições instrumentais do ICP OES</b>			
<b>Parâmetros</b>	<b>Nebulizador ultrassônico</b>	<b>Gerador de hidretos</b>	<b>Melhorias alcançadas com HG</b>
<b>Potência</b>	1500 watts (rádio frequência)	1500 watts (rádio frequência)	-
<b>Vazão do gás -plasma</b>	8 L/min	8 L/min	-
<b>Tempo de replicata das amostras</b>	15 segundos	15 segundos	-
<b>Tempo de limpeza</b>	60 segundos	75 segundos	Redução no efeito memória
<b>Vazão da amostra</b>	1,5 mL/min	2,00 mL/min	Maior quantidade de analito presente no percurso
<b>Vazão do gás auxiliar</b>	0,4 L/min	0,3 L/min	Redução no consumo de gás, e no custo analítico
<b>Comprimento de onda</b>	196,026	196,026	-
<b>Visão do plasma</b>	Axial	Axial	-
<b>Amostra e reagentes</b>			
<b>Padrão multielementar de Se</b>	100 mg/L	100 mg/L	-

<b>Solução NaBH<sub>4</sub></b>	0,5% em NaOH 0,2%	0,5% em NaOH 0,2%	-
<b>Ácido Clorídrico (HCl)</b>	5 mL	2 mL	Redução no consumo de reagente
<b>Tempo de chapa</b>	20 minutos	10 minutos	Redução no tempo de digestão e gasto de energia
<b>Volume de amostra</b>	50 mL	25mL	Redução no volume de amostra e nos resíduos gerados

Fonte: Autora

Segundo TAKASE (2002), a concentração de Borohidreto deve ser otimizada para o elemento de interesse, bem como o equipamento usado na análise. A concentração de Borohidreto para determinação de selênio proposta pelo método é ideal e foi verificada com um teste previamente realizado, tendo em vista que não foi possível usar maior concentração de Borohidreto para melhorar a produção do hidreto, pois ao elevar de 0,2% para 0,5% ou 0,8% a concentração do agente redutor, o plasma não se sustentava, o que impedia o funcionamento do equipamento, isso provavelmente ocorre pela produção em excesso H<sub>2</sub> atribuído por alguns autores como PINILLOS (1995). Tendo em vista esse resultado manteve-se a concentração de 0,2% de Borohidreto.

O método de digestão da amostra também foi alterado. Com o decorrer os testes, percebeu-se que grande quantidade de amostra era perdida durante o aquecimento em chapa usando béquer e vidro de relógio como tampa (proposto pelo método), conforme a figura 9a, logo foi implementado o uso de frascos centrífugas hermeticamente fechados, aquecidos em banho-maria figura 9b, a fim de se evitar perda do analito e da amostra durante o processo de digestão, o que ocasionou melhor rendimento ao fim do preparo da amostra.

Tendo em vista que após a verificação por meio de um teste que, tubos centrífuga novos ou reutilizados, após o aquecimento em banho-maria, alcançam o

mesmo nível de intensidade, indicando que não apresentam interferência na medição após o aquecimento e que podem ser reutilizados durante as análises.

Figura 8: a) aquecimento em chapa usando béquer e vidro de relógio. b) Aquecimento em chapa em banho-maria usando frascos hermeticamente fechados.

Figura 8a



Figura 8b



Fonte: Autora

### 8.1.1 Teste preliminar: Variáveis químicas e físicas

O primeiro teste com variáveis químicas foi desenvolvido com intuito de avaliar a influência das concentrações dos reagentes necessários para formação do hidreto, e o tempo de chapa necessários para a redução do selênio IV para Se IV antes da introdução do analito no gerador de hidretos.

As concentrações e condições estão apresentadas na tabela 2 na página 43 e foram estabelecidas com base no método proposto pelo Standard Method 3120 B e pela fabricante do equipamento.

As variações W, X, Y e Z testadas tinham o intuito de avaliar a quantidade de selênio IV disponível para a produção de hidretos, após a redução do volume da amostra e do agente pré-redutor (HCl), e conseqüentemente o tempo de aquecimento da amostra durante a digestão. Tais resultados estão no ANEXO III, e foram obtidos verificando-se a resposta do equipamento através da observação da intensidade do sinal obtida em cada leitura, uma média de 15 medições de cada variação, foi

realizada, totalizando 60 testes e estão representadas pelas médias obtidas para cada variação, na tabela 5.

Tabela 5: Média das intensidades das amostras analisadas conforme suas respectivas variações.

Varição/ parâmetros	Comprimento de onda para o Se utilizado	Volume da alíquota	Volume de HCl	Tempo de chapa	Volume final da solução	Intensidade obtida
Varição W	196,028	25 mL	5 mL	20 min.	50 mL	<b>1393,57</b>
Varição X	196,028	25 mL	5 mL	10 min.	50 mL	<b>1217,98</b>
Varição Y	196,028	10 mL	2 mL	20 min.	25 mL	<b>1376,165</b>
Varição Z	196,028	10 mL	2 mL	10 min.	25 mL	<b>1396,844</b>

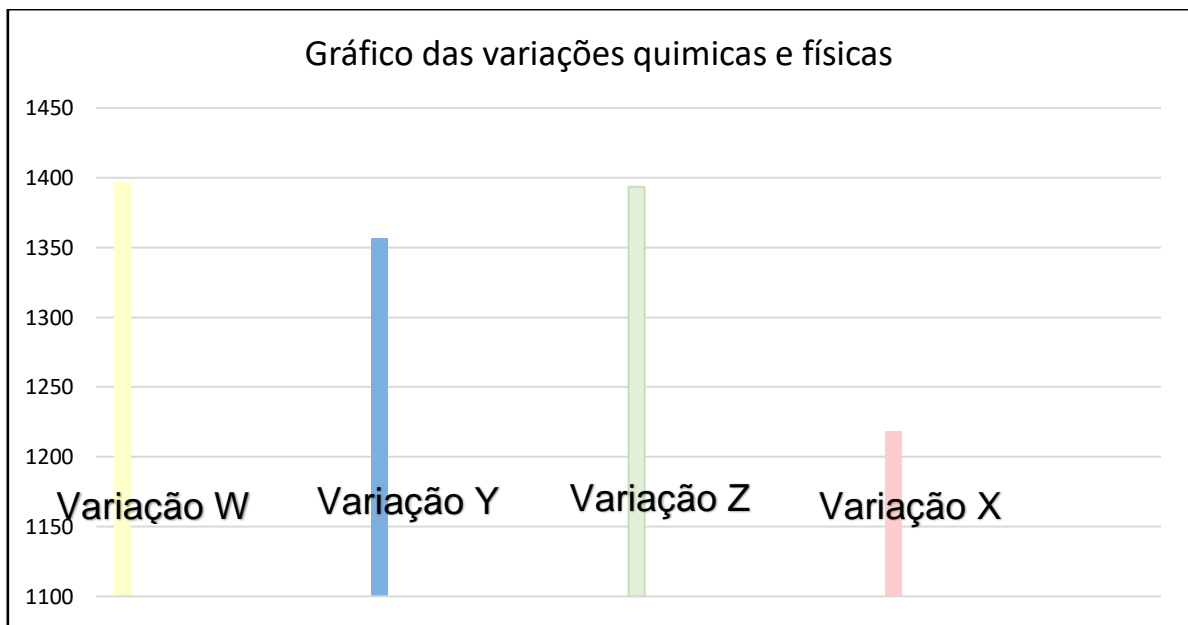
Fonte: Autora

Na tabela 5 é possível verificar que a maior intensidade alcançada foi na variação “Z”, na qual usa o menor volume de ácido, juntamente com o menor tempo de chapa para pré-redução do analito, produzindo a menor quantidade de amostra.

No gráfico 1, é possível visualizar com maior facilidade, o melhor resultado obtido, tendo em vista que os valores de intensidade para as variações “W” e “Z” estão bem próximos, pode-se empregar a redução do volume da amostra, volume do ácido e do tempo de digestão da amostra, sem que haja perda do analito ou qualidade da análise, gerando praticamente a mesma quantidade de hidreto de selênio que pode ser detectada no equipamento. Tendo em vista que, o preparo da solução proposto pelo método (variação “W”) usa maior volume de solução, num maior tempo de digestão, e conseqüentemente gera maior quantidade de resíduos e gasto de reagente, sendo que o equipamento usa apenas 5 mL de solução durante a leitura.

A configuração “Z”, apresentou um bom resultado, alcançando níveis de intensidade bem próximos ao do preparo de solução convencional, mesmo usando menor volume de solução e proporcionalmente o menor tempo de digestão e volume de ácido. Dessa forma, a variação “Z” foi a escolhida como ideal para dar prosseguimento aos testes, tendo em vista que ela requer menor consumo de amostra, de reagentes e tempo de análise.

Gráfico 1: Intensidades referentes à comparação das variações W, X, Y e Z para otimização do sistema HG-ICP OES na determinação de selênio.



Fonte: Autoraw

Através do gráfico é possível observar que a variação “X”, não produz o mesmo sinal de intensidade que a variação W, sendo que as duas diferem apenas pelo tempo de aquecimento na pré-redução do analito (variação X usa-se 10 minutos de digestão, e a variação “W” usa 20 minutos de digestão da amostra proposto pelo método), sugerindo que o tempo de aquecimento de 10 minutos não foi o suficiente para reduzir toda quantidade de selênio que havia na amostra, logo a variação “X” não é adequada para alcançar os melhores resultados para determinação de selênio em água por HG ICP OES.

Toda via, a configuração “Y” alcançou intensidade um pouco menor que as variações “W e Z”, tendo um volume de amostra reduzido e tempo de digestão longo, em relação a melhor resposta, sugere que ocorreu a reoxidação do selênio na

amostra, devido ao aquecimento por um longo período de uma quantidade pequena de analito, sendo também a variação “Y”, inviável para a determinação.

### 8.1.2 Teste variáveis instrumentais

Após estabelecer que a variação “Z”, do primeiro teste, é a mais adequada para a redução do selênio, seguiu-se para o teste das variações instrumentais do equipamento, a fim de determinar quais parâmetros instrumentais podem melhorar o sinal do analito.

Para este ensaio foram adotadas as configurações instrumentais enumeradas de 1, 2 e 3, onde a configuração 1 é o padrão utilizado usualmente no equipamento, e as configurações 2 e 3 são melhorias sugeridas nos parâmetros instrumentais tais como: vazão do gás, vazão da amostra e tempo de limpeza do sistema, conforme a tabela 6, teremos as seguintes configurações:

Tabela 6: Configurações instrumentais do equipamento.

<b>Configurações e Parâmetros</b>	<b>Vazão do gás</b>	<b>Vazão da amostra</b>	<b>Tempo de limpeza</b>
<b>Configuração 1 (Padrão rotina do equipamento).</b>	0,4 L/min	1,5 mL/min	60 segundos
<b>Configuração 2 (Aumento do tempo de limpeza e da vazão da amostra).</b>	0,4 L/min	1,75 mL/min	75 segundos
<b>Configuração 3 (Aumento do tempo de limpeza do sistema, aumento da vazão da amostra e diminuição do fluxo de gás).</b>	0,3 L/min	2,0 mL/min	75 segundos

Na configuração 2, com a tentativa de que não ocorra efeito memória, o aumento do tempo de limpeza e da vazão da amostra foram empregados, ocasionando melhoria significativa na detecção do sinal de intensidade do analito, o

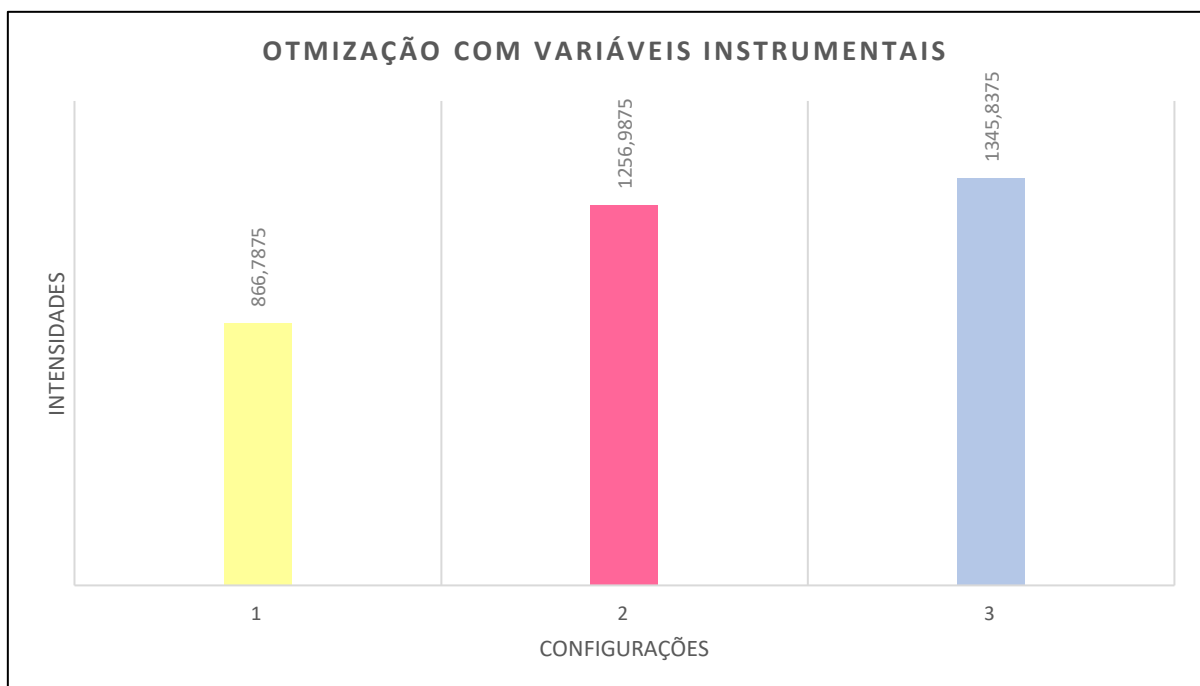


que pode estar relacionado a limpeza do percurso analítico, ou seja, maior tempo de limpeza diminui as interferências de matriz e a presença de impurezas no sistema.

Para avaliar o efeito da vazão do gás argônio (Ar) na análise, empregou-se uma vazão menor que a usada usualmente no equipamento, a redução de 0,4 L/min para 0,3 L/min de gás, mantendo-se o maior volume de amostra adentrando o sistema e maior tempo de limpeza do mesmo. Como resultado, percebe-se que com a configuração “3” existe pouca diferença no sinal de intensidade em comparação a configuração “2”, sugerindo que mesmo com menor quantidade de gás, ainda é possível ter um sinal de intensidade muito bom. Indicando a configuração 3, como ideal para o método otimizado. Propondo melhorias que levam a redução de poluentes, usando menor volume de gás argônio para as análises, o que acarreta também uma redução no custo analítico.

Como resultado, no gráfico 2, construído a partir da média dos valores obtidos de intensidade para cada tipo de configuração, nota-se que os valores de intensidade para configuração otimizada (configuração 2 e 3), são maiores que o valor de intensidade alcançado com a configuração padrão do método, resultados encontram-se no ANEXO IV.

Gráfico 2: Valores de intensidade obtidos em cada configuração (1, 2 e 3) do instrumento.



Fonte: Autora

Tendo em vista os resultados obtidos com o teste de variações de configurações, foi possível estabelecer que a configuração número 3 é a mais adequada para a análise de selênio por gerador de hidretos. Logo realizou-se a validação da otimização do método usando as melhorias estabelecidas no teste de variáveis químicas/físicas (usando a variação “Z”) e no teste de variáveis instrumentais (usando a configuração número 3) ambas tidas como mais adequadas para determinação de selênio.

## 8.2 Resultado da validação do método

Como já explanado anteriormente neste trabalho, os parâmetros aplicáveis a validação depende do tipo de ensaio em questão, neste caso, análise de elementos menores ou traço (com menor teor de concentração do analito) deve-se realizar os parâmetros de linearidade, seletividade, precisão intermediária, repetibilidade, recuperação, limite de quantificação, limite de detecção, incerteza de medição (INMETRO, 2020).

### 8.2.1 Análise da linearidade

A verificação da linearidade do selênio de acordo com o método proposto foi realizada preparando soluções com os padrões já citados na tabela 2. Os testes de Grubss, gráficos das curvas de calibração (Figura 10) construída sem matriz e resíduos (Figura 11), estão a baixo e verifica-se que o selênio possui linearidade dentro do aceitável, tendo em vista que o coeficiente de determinação ( $r^2$ ) = 0,9999 (acima de 0,996 recomendado pelo INMETRO), portanto pode-se concluir que a curva analítica é linear e pode ser adotada na quantificação das amostras de interesse, o teste de Grubss não aponta *outliers* e os resíduos possuem comportamento aleatório.

Os resultados do teste de linearidade (ANEXO I e II) com as curvas de calibração com o coeficiente de correlação ( $r^2 = 0,9992$ ) e equação da reta ( $y = 81127x + 44,502$ ), bem como o teste de resíduos, estão apresentados na figura 9 e 10 respectivamente.

Figura 9: Representação gráfica da curva de calibração analítica para o selênio e coeficiente de determinação através do cálculo de regressão linear.

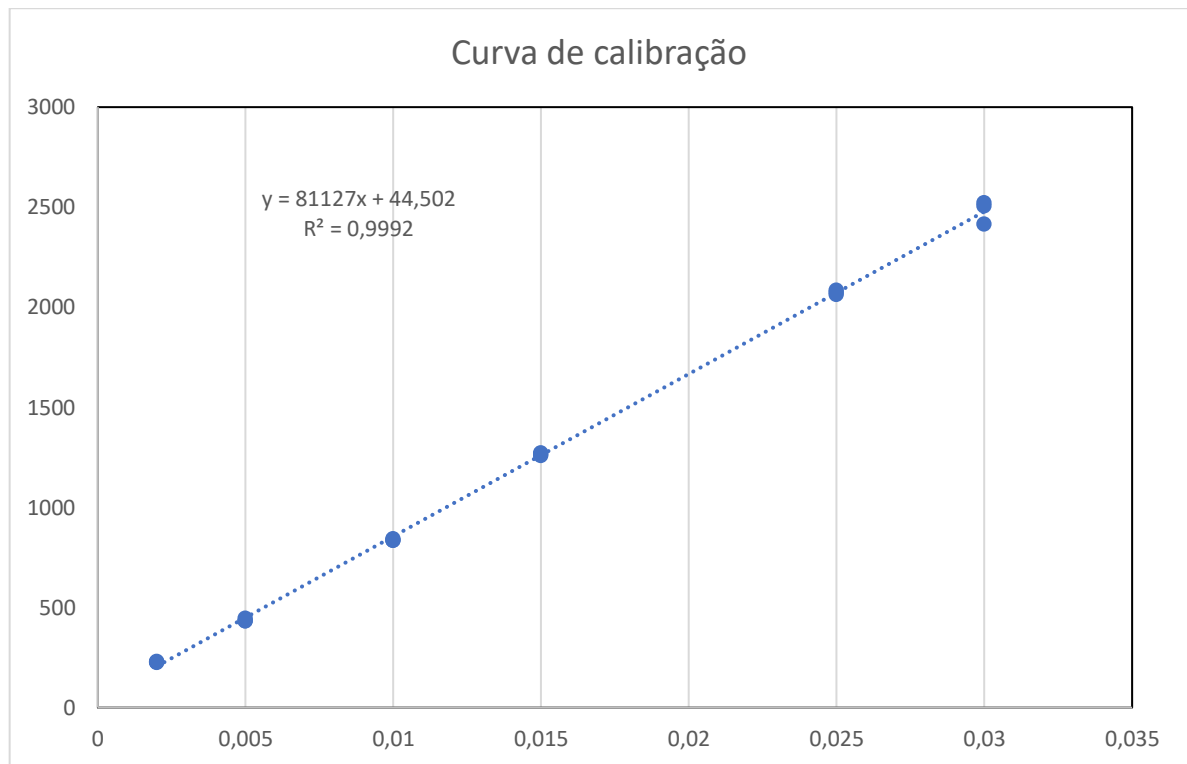
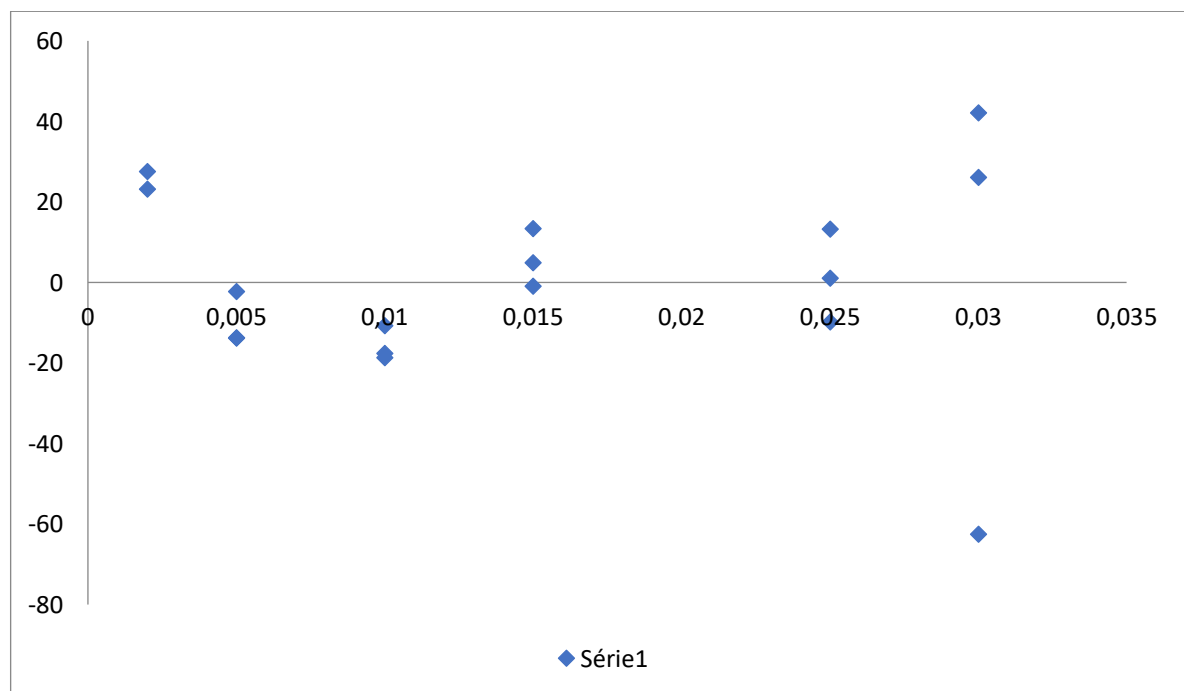


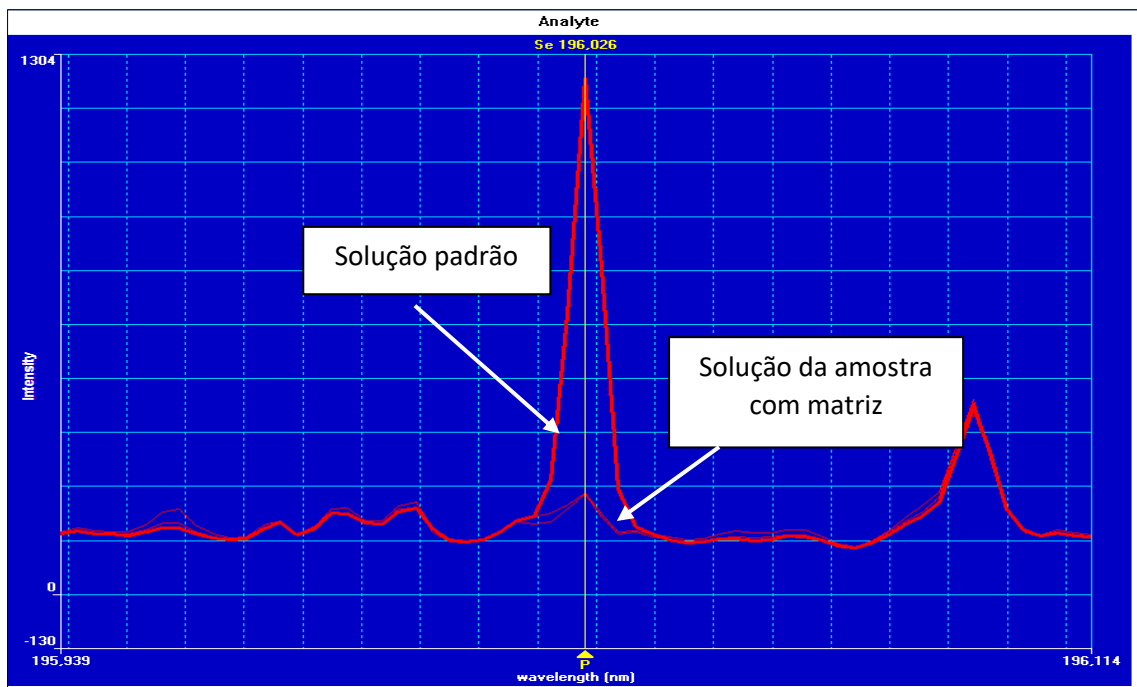
Figura 10: Avaliação da linearidade dos dados da curva, através do teste dos resíduos.



### 8.2.2 Análise da seletividade

Com o intuito de avaliar a influência da matriz da amostra na curva analítica, a seletividade foi avaliada, para isso foram traçados os espectros de amostras com alta concentração de selênio (ponto do meio da curva, de concentração 0,015 mg/L) e do padrão sem matriz (também do ponto do meio da curva de concentração 0,015 mg/L), nos quais pôde-se observar, na figura 12, que o perfil do pico de emissão do selênio da amostra de matriz alta é idêntico ao perfil do pico da soluções-padrão do selênio, indicando que não ocorreram interferências espectrais de matriz na determinação.

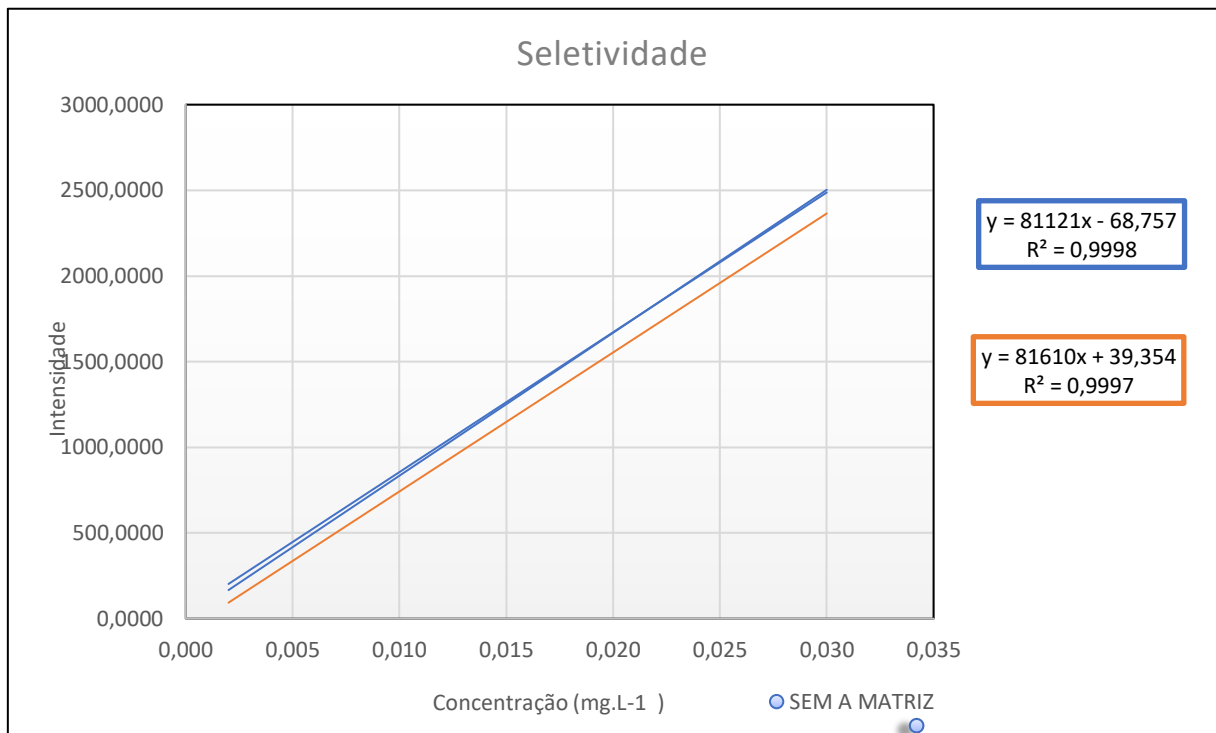
Figura 11: Espectros de emissão da solução-padrão do ponto 0,015 mg/L e da amostra com matriz no mesmo ponto.



Fonte: Autora

Para melhor observar o comportamento da curva analítica da solução contendo matriz e a solução sem matriz, foi construído um gráfico com os seis pontos de concentração da curva para cada tipo de solução (ANEXO V). Os coeficientes de determinação deram 0,9997 e 0,9998 para curva com matriz e sem matriz respectivamente, na figura 11 é possível visualizar a representação gráfica da seletividade, comparando as curvas que se apresentam semelhantes.

Figura 12: Representação gráfica da seletividade das curvas com matriz e sem matriz.



Fonte: Autora

Para a avaliação estatística da seletividade, as variâncias de cada curva foram calculadas (tabela 8) e o teste F foi aplicado para comparar as variâncias obtidas. O valor de F tabelado foi obtido para n=5 (ANEXO V).

Tabela 8 - Análise do teste F – Snedecor, para avaliar o efeito da matriz na curva analítica

Curvas	Média intensidade	Variância (s <sup>2</sup> )	F calculado	F tabelado
Curva sem matriz	1222,70535	8,2 x 10 <sup>+5</sup>	1,013348	5,0500
Curva com matriz	1107,504117	8,1 x 10 <sup>+5</sup>		

Utilizando o teste F (Snedecor) de homogeneidade das variâncias, para n=5, nas medidas de adição padrão na matriz de interesse e na solução-padrão:

$$F = \frac{\text{variância}_{\text{maior}}}{\text{variância}_{\text{menor}}} \quad (22)$$

$$F = \frac{822828,8135}{812901,3331}$$

$$F = 1,013348$$

Os resultados foram satisfatórios sendo  $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$  demonstrando que não há interferência da matriz da amostra na curva analítica, tendo em vista que o valor do  $F_{\text{calculado}} = 1,013348$  é menor que o  $F_{\text{tabelado}}=5,05$  logo, não existem interferências significativas entra a variabilidade das análises nas curvas com e sem matriz (ALBANO, 2015).

### 8.2.3 Análise da repetibilidade

Foi realizado o teste de repetitividade, foram realizadas 20 medições de selênio em soluções preparadas com o padrão (ANEXO VI), em concentração (0,020 mg/L) intermediária à curva de calibração. Para a repetibilidade, as medições foram feitas por um mesmo analista em um curto espaço de tempo. De acordo com o critério de aceitação de  $CV < 5\%$ , o selênio obteve resultado 0,45% (CV), sendo aceitável.

Quadro 7: Resultados Globais de acordo com o critério de aceitação

<b>RESULTADOS GLOBAIS</b>				
Conc, (mg/L)	Média	Desvio padrão	(CV) %	CVcalc ≤ 5%
0,020	0,0282	0,0001	0,46	Aceitar

### 8.2.4 Precisão intermediária

Avaliou-se a precisão intermediária realizando teste de repetitividade de 21 medidas de soluções (ANEXO VII), preparadas com padrão em concentração intermediária à curva de calibração, por analistas diferentes em dias diferentes. Os

resultados de repetitividade deram todos satisfatórios. As análises obtiveram os seguintes resultados.

Quadro 8 : Resultados precisão intermediária

<b>MÉDIA GLOBAL</b>	<b>0,020</b>	<b>MG/L</b>
Desvio padrão	0,001	mg/L
Precisão intermediária	2,56	%

### 8.2.5 Análise da recuperação

Avaliou-se a recuperação (ANEXO VIII) na amostra realizando sete medidas de soluções, preparadas com os padrões em alta concentração de selênio, intermediária à curva de calibração utilizando a matriz como uma amostra real. De acordo com o critério de aceitação de  $90\% < \text{Recuperação} < 100\%$  e  $CV < 10\%$ , o elemento obteve recuperação satisfatória, atingindo os critérios conforme o quadro abaixo:

Quadro 9: Análise da recuperação da amostra.

<b>NÍVEL DE CONCENTRAÇÃO</b>	<b>MÉDIA</b>	<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>CV%</b>	<b>RECUPERAÇÃO</b>
0,010 mg/L	0,0100	0,0002	2,4%	100%

### 8.2.6 Análise da incerteza

A incerteza de medição realizada foi calculada conforme descrita no item 7.5.2, deste trabalho. Para um intervalo de confiança de 95%, os valores de incerteza encontram-se no quadro 10:

Quadro 10: Fonte de incerteza

<b>ELEMENTO</b>	<b>FONTES DE INCERTEZA</b>				
selênio	$\mu$ combinada	$\mu$ expandida		$\mu$ (Curva)	$\mu$ (Rep)
		U (mg/L <sup>-1</sup> )	U%		

	0,05	0,0011	5,5	0,001	2,56
--	------	--------	-----	-------	------

### 8.2.7 Limite de quantificação (LQ)

Foram realizadas 10 medições (ANEXO XII) de soluções preparadas com os padrões em concentração igual ao primeiro ponto da curva de calibração (0,002 mg/L). De acordo com o critério de aceitação de  $90\% < \text{Recuperação} < 100\%$  e  $CV < 10\%$ , o selênio atingiu o objetivo, obtendo o limite de quantificação igual a:

$$LQ = b + (10).s \quad (23)$$

$$LQ = 0,002 + (10 \times 0,00) = 0,002 \text{ mg/L}$$

Onde: s: Desvio padrão da resposta do branco

b : É a média dos valores do branco.

10: O número de replicatas, quando possível, pode-se adotar o número de replicatas igual a 7.

Quadro 11: Limite de quantificação

Analito	Média	SD	CV%	Recuperação %	CV<10%
Se	0,0020	0,000	4,9	98,18%	Aceitável

### 8.2.8 Limite de detecção (LD)

Usando o valor obtido no limite de quantificação, através da equação chegou-se ao limite de determinação.

$$LD = \frac{LQ}{3,3} \quad (23)$$



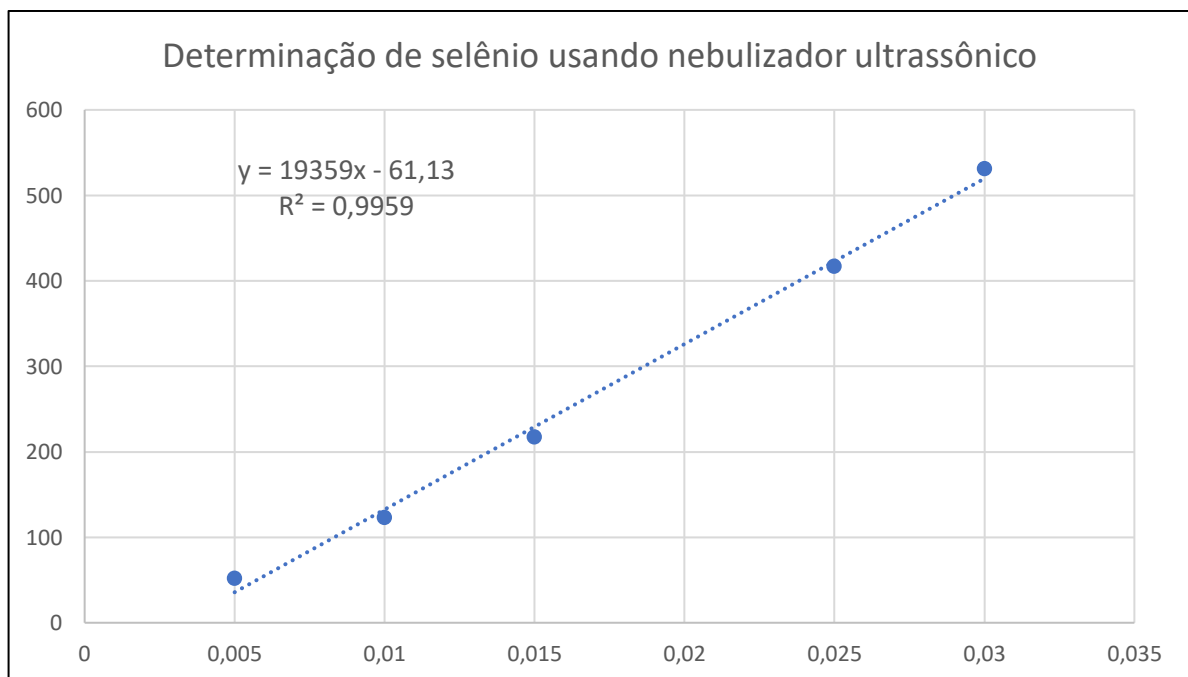
$$LD = \frac{0,002}{3,3}$$

$$LD = 0,0006 \text{ mg/L}$$

### 8.2.9 Teste comparativo de métodos com amostras reais.

Um teste comparativo também foi realizado, abrangendo as condições de análises anteriormente utilizada em rotina no ICP OES com as novas condições otimizadas neste estudo. Construiu-se duas curvas de calibração, com os níveis dos padrões já mencionados na tabela 2, realizando uma curva com as configurações apresentadas (tabela 6) para o método convencional de análise com nebulizador ultrassônico (configuração padrão do equipamento) (figura 14), em comparação com a curva contendo a otimização sugerida para a análise juntamente com o gerador de hidretos (figura 13).

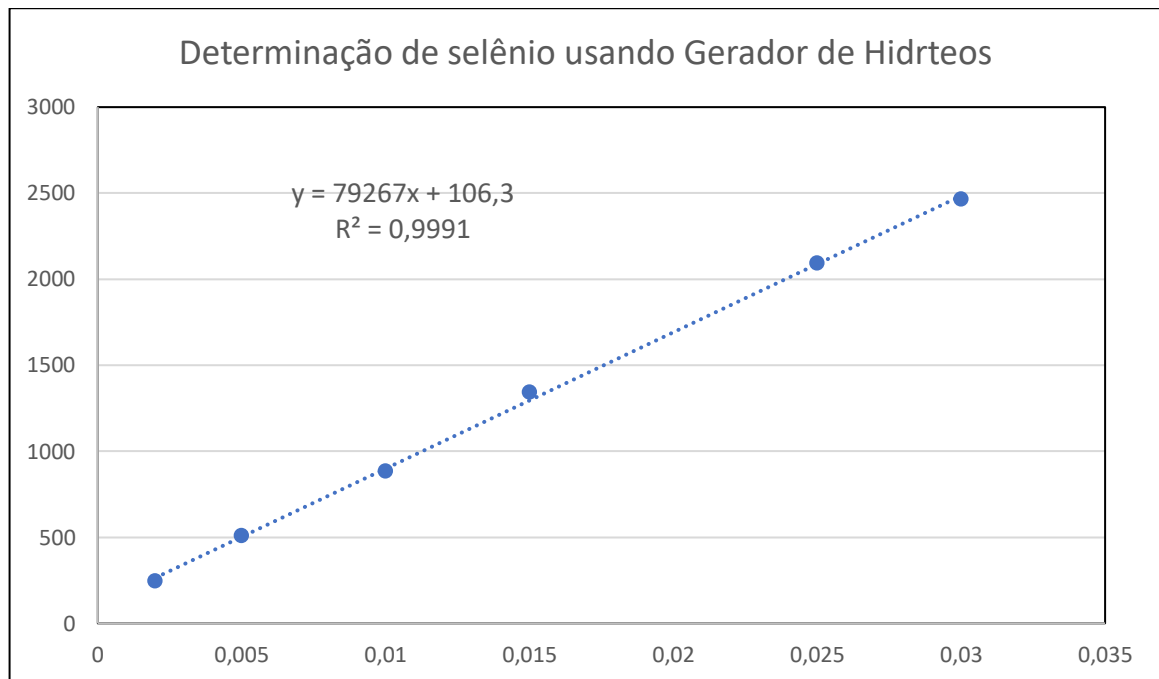
Figura 13: Curva de intensidade, construída usando o método convencional com nebulizador ultrassônico.



Fonte: Autora

Através deste gráfico é possível verificar que a construção da curva acontece com apenas 5 pontos, pois não é possível alcançar um ponto menor na curva usando o nebulizador ultrassônico, conforme o ANEXO VIII, é possível verificar que a intensidade do sinal do analito varia entre (46,9249 – 531,0622).

Figura 14: Curva de intensidade, construída usando o método otimizado com gerador de hidretos.



Fonte: Autora

O coeficiente de correlação da curva com as configurações foi 0,9991, o que contribui para evidenciar a melhoria da otimização em relação ao método convencional de análise, além da melhoria no sinal de intensidade do analito (ANEXO XIII) das quais variam entre 245,34 – 2463,37, além da curva conter seis pontos, sendo o menor deles 0,0002 mg/L.

## 9 CONCLUSÃO

A otimização da metodologia, proposta para a determinar selênio em água subterrânea, utilizando o método de gerador de hidreto juntamente à técnica ICP-OES, tendo como ferramenta o planejamento experimental fatorial  $2^3$  multivariado,

possibilitou determinar as condições ótimas das variáveis química, físicas e instrumentais em função das intensidades máximas obtidas do analito.

O estudo para digestão de amostra mostrou que o volume de ácido clorídrico afeta diretamente os resultados de selênio na geração de hidretos, obtendo-se resultados satisfatórios e melhores que o método convencional que utiliza nebulizador ultrassônico, sendo definido volume ideal de 2 mL de ácido clorídrico na pré redução do selênio, e 25 mL de amostra contendo Se IV, para leitura no equipamento.

O método geração de hidretos em espectrometria óptica com o plasma indutivamente acoplado (HG ICP OES), para determinação de selênio em água subterrânea, demonstrou-se satisfatório, uma vez que, o estudo de validação realizado foi seletivo, linear, preciso, sensível. A validação da metodologia foi permitiu assegurar a qualidade e a precisão dos resultados obtidos na matriz de água subterrânea alcançando resultados de acordo com o esperado para cada teste.

Na análise de seletividade do método, a matriz utilizada para os testes não mostrou nenhuma interferência da matriz para a determinação do elemento, além de apresentar picos de intensidade definidos e semelhantes ao espectro do selênio. O método mostrou-se linear na faixa de trabalho desenvolvida, com um coeficiente de determinação ( $r^2$ ) igual a 0,9994 e, com os cálculos dos testes "F" foi possível comprovar matematicamente a seletividade do método. Logo, foi possível determinar os resultados de intensidade em contagens por segundo (CPS) proporcionais as concentrações dos analitos dentro de uma variação conhecida e aceitável.

O limite de quantificação (LQ) do método (0,0027 mg/L) demonstrou-se apropriado e abaixo dos valores máximos permitidos de concentração de selênio em água subterrânea conforme a RDC Nº 274 (0,01 mg/L).

O estudo da precisão intermediária, através do teste de repetibilidade alcançou o esperado, tendo em vista que o teste F realizado, mostrou que os dois grupos de dados (com matriz e sem matriz) apresentam variâncias equivalentes.

A recuperação do elemento foi aceitável para o limite selecionado ( $\pm 10\%$ ), 100%. Foi possível estimar uma incerteza do método a partir das fontes de incerteza e pelo modelo matemático utilizado. A incerteza expandida, estimada em 0,0011 mg/L da concentração encontrada, sugerindo este valor mínimo de correção para os valores encontrados, sendo este um ótimo valor de incerteza.

Através teste comparativo, evidenciou-se a melhoria da otimização em relação ao método convencional de análise.

Não houve registro de efeito memória durante toda otimização do método, sendo essencial o aumento no tempo de limpeza do sistema para que não ocorra este efeito.

Tendo em vista esses resultados, conclui-se que o método gerador de hidretos com espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (HG ICP OES) poderá vir a ser empregado com sucesso em procedimentos de rotina em laboratório de análise de selênio em água subterrânea.

A melhoria no método sugerida, propõe menor consumo de reagentes e de gás argônio, sendo de suma importância para o meio ambiente, a redução dos resíduos gerados na análise. Além da melhoria no custo-benefício da análise, diminuindo o uso do ácido clorídrico, e tempo de chapa, o que também viabiliza a mão de obra técnica que realiza o procedimento.

## 10 REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (ANVISA/MS). Resolução da Diretoria colegiada resolução RDC Nº 274, de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para Águas Envasadas e Gelo, 2005.

ALBANO, F. M., RODRIGUEZ, M. T. R., Validação e garantia de qualidade de ensaios laboratoriais. ed. Rede metrológica RS. 2ª edição. Porto Alegre, 2015.

ALEIXO, P. C.; NÓBREGA. J. A.; Determinação direta de selênio em água de coco e em leite de coco utilizando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. Disponível em: <repositorio.ufpa.br:8080/jspui/bitstream/2011/5960/1/Artigo\_DeterminacaoDiretaSelênio.pdf>. Acesso ago. 2021.

ALLANDER, E. Kashin-Beck disease: an analysis of research and public health activities based on a bibliography. Scandinavian Journal of Rheumatology, v. 1992, n. 23, p. 1849-1992, 1994.

AMWEG, E. L.; STUART, D. L; WESTON, D. P. Comparative bioavailability of selenium to aquatic organisms after treatment of agricultural drainage water. Aquatic Toxicology, v. 63, p. 13-25, 2003.

AONO, T.; NAKAGUCHI, Y.; HIRAKI, K. Vertical profiles of dissolved selenium in the North Pacific. Geochemical Journal, v. 25, p. 45-55, 1991.

ANA – AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO, ÁGUAS SUBTERRÂNEAS: O QUE É E QUAL A IMPORTÂNCIA, 2020. Disponível em <<http://www.gov.br/fundaj/pt-br/destaques/observa-fundaj-itens/observa-fundaj/revitalizacao-de-bacias/aguas-subterraneas-o-que-e-e-qual-a-importancia>>. Acesso em 18 dez. 2021.

APHA, A. W. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22. ed. Washington DC: American Public Health Association, 2012.

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.

BARCELOUX, G. D. 1999. Selenium. Clinical Toxicology, 37(2):145-172.

BOSS, C. B. e FREDEEN, K. J. Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. Perkin Elmer, 2004.

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.

CAPELO, J.L., FERNADEZ, C., PEDRAS, B., SANTOS, P., GONZALEZ, P., VAZ, C. Trends in selenium determination/speciation by hyphenated techniques based on AAS ar AFS.

CARACTERIZAÇÃO HIDROGEOLÓGICA E HIDROQUÍMICA DAS ÁGUAS SUBTERRÂNEAS DA REGIÃO DE SÃO GABRIEL, RS. MARCELO GOFFERMANN 2013. Disponível em <<https://rigeo.cprm.gov.br/handle/doc/1154>>. Acesso em 18 dez. 2021.

CETESB, Ficha de informação toxicológica. Divisão de toxicologia humana e saúde ambiental, maio de 2018. Disponível em: <[www.cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2021/05/selenio.pdf](http://www.cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2021/05/selenio.pdf)> Acesso: 07 de janeiro de 2022.

CETESB, Qualidade das águas subterrâneas do estado de São Paulo 2013-2015. Disponível em <<http://aguasubterraneas.cetesb.sp.gov.br/publicacoes-e-relatorios/>> Acesso: 05 de janeiro 2022.

CHOI A.L., CORDIER S., WEIHE P. & GRANDJEAN P. 2008. Negative confounding in the evaluation of toxicity: the case of methylmercury in fish and seafood. Crit Rev Toxicol., 38(10): 877-893.

COELHO, N.M.M.; BACAN, N. Determinação de ultra traços de selênio em urina por geração de hidretos espectrometria de absorção atômica em fluxo. Ecl. Química, vol. 29(1), p. 7 - 14, 2004

CONCEPT, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, Charles B. Boss and Keneth J. Fredeem, Second Edition, Perkin Elmer. 1997.

CONTINUOUS FLOW HYDRIDE GENERATION USING THE OPTIMA ICP, Field Application Report, PerkinElmer, 2004.

CPRM – COMPANHIA DE PESQUISA E RECURSOS MINERAIS. Serviço Geológico do Brasil- Legislação da água mineral no Brasil, 2020. Disponível em: <[aguamineral.cprm.gov.br/legislacao.html](http://aguamineral.cprm.gov.br/legislacao.html)>. Acesso em 18 dez. 2021.

CONCELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução 396, de 3 de abril de 2008. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências, 2008.

CRISPINO, C. CARLA. Determinação de As, Sb, Se em material agrônômico por IPC OES com gerador de hidretos. Dissertação de mestrado Universidade Federal de São Carlos. São Carlos- SP, 2005.

FAUSTINO, G. MAINARA. Desenvolvimento de metodologia para determinação de metais em amostra de água do ICP OES. IPEN. Dissertação de mestrado, São Paulo, 2015.

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 prereductant. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, v.361, p.155-157, 1998

FERRER E, ALEGRIA A, BARBERÁ R, FARRÉ R, LAGARDA MJ, MONLEON J. Whole blood selenium content in pregnant women. *Sci Total Environ*; 227, 139-143, 1999.

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 prereduction of Se (VI) to Se (IV)". *Atlanta*, 52: 1015, 2000.

GINÉ, Maria Fernanda Rosias. Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente - ICP-AES. Piracicaba - SP : CENA - Centro de Energia Nuclear na Agricultura/ USP - Universidade de São Paulo, 1998.

GOFFERMANN, M., VIERO, A. P., & SILVA, E. B. (2015). Caracterização hidrogeológica e hidroquímica das águas subterrâneas da região de São Gabriel, RS. *Pesquisas Em Geociências*, 42(3), 239–261. Disponível em : <<https://doi.org/10.22456/1807-9806.78123>>. Acesso em: 08 de outubro de 2021



HARRIS, D. C. Análise Química Quantitativa. Rio de Janeiro: LTC, 2005.

HAYGARTH, Filipe M. Harrison.; António F.; Kevin C. Jones. Variação Geográfica Sazonal na deposição de selênio na vegetação. Ciência e Tecnologia Ambiental, 1993.

HOU, X. e JONES, B. T. inductively coupled plasma/ optical emission spectrometry. in: meyers, r. a. (ed.) encyclopedia of analytical chemistry: applications, THEORY AND INSTRUMENTATION. John Wiley & Sons: Chichester, 2000. p. 9468-9485.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA (INMETRO). Orientação sobre validação de métodos analíticos. REVISAO 009 DE ABRIL DE 2020.

JUNIOR, A. G.; KEIKO, E. S.; COTRIM, M. E. B.; PIRES, M. A. F.; Selênio em águas subterrâneas da região noroeste do estado de São Paulo. Disponível em <[www.ipen.br/biblioteca/2008/eventos/13465.pdf](http://www.ipen.br/biblioteca/2008/eventos/13465.pdf)>. Acesso 18 dez. 2021.

JUNIOR, ALCIDES GOMES. Determinação de selênio em água subterrânea utilizando a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafita (GFAAS) e geração de hidretos (HGAAS). Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares IPEN. São Paulo, 2008. Dissertação de Mestrado.

LEMIRE, M.; FILLION, M.; FRENETTE B.; PASSOS, C.J.; GUIMARÃES, J.R.; BARBOSA, F. Jr. O selênio de fontes alimentares e funções motoras na Amazônia brasileira. Neurotoxicology, 32(6): 944-53, 2011.

MACEDO, S. M. Estratégias analíticas para análise de especiação de arsênio, antimônio e selênio em amostras ambientais usando amostragem por suspensão e HG AAS. UFB. Salvador-BA, 2010.

MARQUES, Joyce Rodrigues. Otimização e validação de metodologia analítica para determinação de metais e semimetais em efluentes líquidos por espectrometria de emissão óptica com plasma de argônio. Dissertação de mestrado. São Paulo, 2015 Disponível em: [www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85134/tde-11022016-132739/publico/2015\\_MarquesOtimizacao.pdf](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85134/tde-11022016-132739/publico/2015_MarquesOtimizacao.pdf) Acesso em 18 dez. 2021.

MASSARO EDWARD J. Handbook of human toxicology, CRC PRESS, 1997.

MOREIRA, M.B. Determinação de selênio em peixes de rio madeira por voltametria de dissolução catódica. Dissertação de mestrado da Universidade de Brasília. Brasília, 1994.

NEVES, Adalberto Felipe da Silva. TABELA PERIÓDICA, 2008. Disponível em <[www.tabelaperiodica.hpg.ig.br](http://www.tabelaperiodica.hpg.ig.br)> Acesso: 30 nov. 2019.

OLESIK, J. W. Elemental analysis using an evaluation and assessment of remaining problems. Analytical Chemistry. vol. 63, 1 ed, p. 12A-21A, 1991.

OMS, World Health Organization. EHC, Environmental Health Criteria N° 58. Selenium., Geneva, Switzerland. 1987.

PEREIRA, L. A. C.; FRANZOLIN, T. A.; RAMPEL, K.; BARBOSA, F. A. R.; REDE DE MONITORAMENTO DAS ÁGUAS SUBTERRÂNEAS NA BACIA SEDIMENTAR DOS PARECIS. Disponível em: <<https://rigeo.cprm.gov.br/handle/doc/17399>> Acesso em: 18 dez. 2021.

PEREIRA, Ludmila. DISTRIBUIÇÃO DE METAIS PESADOS E CIANETO TOTAL NOS SEDIMENTOS DE DRENAGEM E PILHA NA ÁREA DA MINA BONFIM, MUNICIPIO DE LAJES-RN. Disponível em: <https://rigeo.cprm.gov.br/handle/doc/320> Acesso em: 18 dez. 2021.

NEUBAUER, Ken; MAGARINI, Riccardo. Determination of Arsenic and Selenium in Drinking Water by ICP-OES with Continuous Flow Hydride Generation using a Single Pre-Reduction Procedure, Field Application Report, PerkinElmer, 2021.

RIBEIRO, F. B.; Tratamento de água micro poluentes selênio, 2002. Disponível em: < <http://www.tratamentodeagua.com.br/a1/informativos/index.php> >. Acesso em: 06 jan. 2020.

RIBEIRO, L., VIEIRA, E.M., ALVES, M.G., ALMEIDA, F.T. Aplicação de SIG na visualização da contaminação por Selênio no Aquífero da Região de Buena – Município de São Francisco do Itaporanga/RJ. Anais XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, INPE, p. 3261-3267, 2005.

ROSINI, F.; DONATI, G. L.; NASCENTES, C. .; ARRUDA, M. A. Z.; NOGUEIRA, A. R. A.; Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS): Comportamento dos elementos selênio e cobalto. Congresso de pós-graduação Universidade de São Carlos, 2005.

SEIXAS, Tércia G.; DO A KEHRIG, Helena. O selênio no meio ambiente. **Ecologies Brasiliensis**, v. 11, n. 2, p. 264-276, 2007.

SHIKLOMANOV, I.A. World resources – a new appraisal and assessment for the 21st Century IHP/UNESCO. 1998.

SILVA, Cassio Roberto. Avaliação do risco geológico à exposição de elementos químicos à saúde ambiental, na região de Araçuaí-Itinga, Minas Gerais, Brasil. Disponível em: < <https://rigeo.cprm.gov.br/handle/doc/437> > Acesso em: 18 dez. 2021.

SILVA, F.V.; TREVIZAN, L.C.; Nogueira, A.R.A; Nóbrega, J.A.; *Spectrochim. Acta B* 2002, 57, 1905.

SKOOG, Douglas A, HOLLER, F James; NIEMAN, Timothy A. Principles of Instrumental Analysis. Orlando : Harcourt Brace & Company, pp. 796-829. Vol. Fifth Edition, 1998.

STRIPEIKIS J, TUDINO M, TROCCOLI O, WUILLOUD R, OLSINA R, MARTEVffiz 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. *Spectrochim Acta B*, 56(1), 93-100, 2001.

NÓBRCGA, J. A. I Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS): Comportamento dos elementos selênio e cobalto Rosini, F. I ; Donati, G. L. I ; Nascentes, C. c.2 ; Arruda, M. A. Z.J; Nogucira, A. R. A.4, 2005.

TALANTA, v. 68, p. 1442-1447, 2006. [6] MAZEJ, O., FALNOGA, 1., VEBER, M., STIBILIJ, V. Determination of selenium species in plant leaves by HPLC-UV-HG-AFS, *Talanta*, v. 68, p. 558-568, 2006.

TAKASE, I., PEREIRA, H. B., LUNA, A. S., GRIMBERG, P. & CAMPOS, R. C. “ A geração química de vapor em espectrometria atômica.

TAO GH, STURGEON RE. Sample nebulization for minimization of transition metal interferences with selenium. *Spectrochim Acta B*, 54(3-4), 481-489, 1999.

TRIBEIKIS J, TUDINO M, TROCCOLI O, WUILLOUD R, OLSINA R, MARTEVffiz 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. *Spectrochim Acta B*, 56(1), 93-100, 2001

THOMPSON, K.C; THOMERSON, D. R. Atomic-absorption on the determination of antimony, arsenic, bismuth, germanium, lead, selenium, tellurium and tin by utilizing the generation of covalent hydrides. *Analyst*, London, v. 99, p. 565-600, 1974.

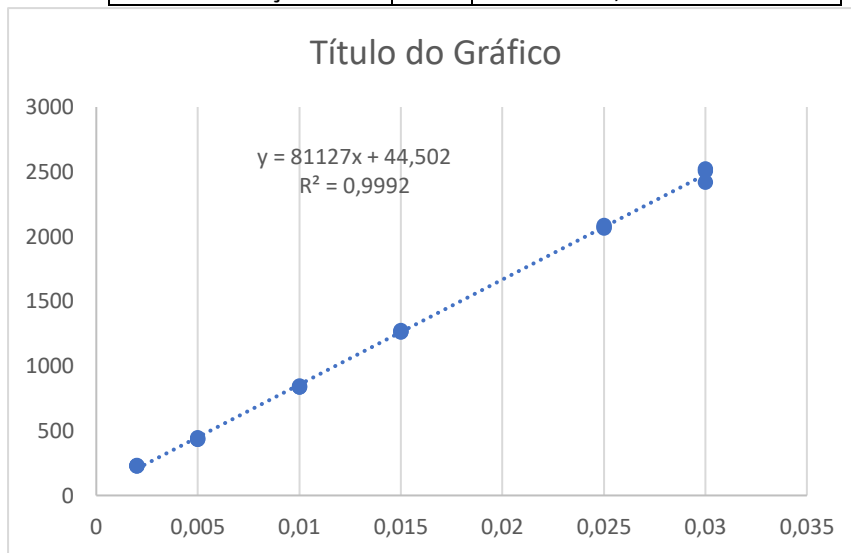
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ. Processo de absorção e emissão de fótons. universidade federal do Ceará, 2014. Disponível em: <<https://seara.ufc.br/pt/secoes-especiais-de-ciencia-e-tecnologia/secoes-especiais-fisica/lasers/>>. Acesso em: 08 nov. de 2021.

ZAPPELINI, ALINE IARA. Desenvolvimento do método HG – ICP OES para determinação simultânea de arsênio e selênio. Florianópolis – SC, 2014. Dissertação de mestrado.

ZARCZYNSKA, Katarzyna; "Efeitos do selênio na saúde animal." *Journal of Elementology* 18.2 (2013).

ANEXOS  
ANEXO I  
Curva analítica

coeficiente angular	a=	44,5017
inclinação	b=	81127,05
coeficiente de correlação	r2=	0,999205



CONCENTRAÇÃO	INTENSIDADE
X	Y
0,002	225,28
0,002	226,88
0,002	231,22
0,005	433,71
0,005	433,74
0,005	445,26
0,010	843,1
0,010	835,13
0,010	836,28
0,015	1265,11
0,015	1259,26
0,015	1273,54
0,025	2063,07
0,025	2086,19
0,025	2074,01
0,030	2505,33
0,030	2416,71
0,030	2521,37

## ANEXO II

## Regressão Linear

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,999583074
R-Quadrado	0,999166323
R-quadrado ajustado	0,999110744
Erro padrão	24,89674291
Observações	17

## ANOVA

	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	11143358,62	11143359	17977,57206	1,63797E-24
Resíduo	15	9297,717111	619,8478		
Total	16	11152656,34			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>	<i>95% inferiores</i>	<i>95% superiores</i>	<i>Inferior 95,0%</i>	<i>Superior 95,0%</i>	
Interseção	41,19796304	11,03374231	3,733816	0,001995986	17,68009802	64,71583	17,6801	64,71583	
	0,002	81272,37308	606,1462488	134,0805	1,63797E-24	79980,40294	82564,34	79980,4	82564,34

## ANEXO III

## Teste com variáveis químicas e físicas

	amostra	tempo de chapa (minutos)	intensidade		variação	média
	branco w	20	128,9485086	W	1	1393,574443
1	w1	20	1381,941367			
2	w2	20	1396,695959			
3	w3	20	1373,527685			
4	w4	20	1403,976495			
5	w5	20	1404,630893			
6	w6	20	1390,976225			
7	w7	20	+1396,150938			
8	w8	20	1379,486292			
9	w9	20	1401,760805			
10	w10	20	1411,048544			
11	w11	20	1399,547752			
12	w12	20	1381,693913			
13	w13	20	1387,289673			
14	w14	20	1406,49997			
15	w15	20	1388,390137			
	branco x	10	1378,165938	X	2	1217,986056
16	x1	10	162,7133444			
17	x2	10	1445,28996			
18	x3	10	1455,362584			
19	x4	10	1498,886766			
20	x5	10	1541,336796			
21	x6	10 minutos	151,19995			
22	x7	10 minutos	1427,755535			
23	x8	10 minutos	1442,088186			
24	x9	10 minutos	1506,061086			
25	x10	10 minutos	1552,567178			
26	x11	10 minutos	163,8488336			
27	x12	10 minutos	1438,80946			
28	x13	10 minutos	1454,604773			
29	x14	10 minutos	1520,514679			



30	x15	10 minutos	1508,751706			
	branco y	20 minutos	174,8524029			
31	y1	20 minutos	1269,745002			
32	y2	20 minutos	1382,87511			
33	y3	20 minutos	1340,366605			
34	y4	20 minutos	1387,169256			
35	y5	20 minutos	1384,119206			
36	y6	20 minutos	1280,943149			
37	y7	20 minutos	1401,363637			
38	y8	20 minutos	1356,397446	Y	3	1356,956497
39	y9	20 minutos	1392,263456			
40	y10	20 minutos	1357,958049			
41	y11	20 minutos	1304,439111			
42	y12	20 minutos	1398,347632			
43	y13	20 minutos	1369,688055			
44	y14	20 minutos	1371,715237			
45	y15	20 minutos	1371,767731			
	branco z	10 minutos	162,9095926			
46	z1	10 minutos	1398,689654			
47	z2	10 minutos	1409,179021			
48	z3	10 minutos	1379,7108			
49	z4	10 minutos	1417,779121			
50	z5	10 minutos	1404,779435			
51	z6	10 minutos	1410,736081			
52	z7	10 minutos	1377,297335			
53	z8	10 minutos	1388,531471	Z	4	1396,84683
54	z9	10 minutos	1410,093731			
55	z10	10 minutos	1403,82652			
56	z11	10 minutos	1369,937303			
57	z12	10 minutos	1390,408311			
58	z13	10 minutos	1398,020883			
59	z14	10 minutos	1390,827906			
60	z15	10 minutos	1402,884874			

## ANEXO IV

Teste com variáveis instrumentais: Intensidades obtidas com cada tipo de configuração adotada (configurações 1, 2 e 3).

	Amostra	intensidade 1	intensidade 2	intensidade3	Média
1	configuração 1	569,9779016	551,2101092	654,9515715	592,0465274
2	configuração 1	949,9189934	959,8099826	930,5733286	946,7674349
3	configuração 1	904,2509806	927,1067568	974,6205834	935,3261069
4	configuração 1	1019,299818	965,0782943	964,8562889	983,0781337
5	configuração 1	685,1401201	778,6156898	819,3097961	761,0218687
6	configuração 1	803,7962864	923,3972002	935,2712219	887,4882362
7	configuração 1	925,9876294	929,3272985	1043,45923	966,2580526
8	configuração 1	900,7435496	837,4298553	848,682701	862,2853686
9	configuração 2	1102,775315	1048,416581	1078,654458	1076,615451
10	configuração 2	1169,322445	1250,004815	1230,122537	1216,483266
11	configuração 2	1202,653118	1285,186129	1268,786037	1252,208428
12	configuração 2	1552,396583	1536,164492	1419,61087	1502,723982
13	configuração 2	1219,21503	1200,797896	1174,495179	1198,169368
14	configuração 2	1237,742212	1421,221128	1362,061177	1340,341506
15	configuração 2	1217,336237	1317,307531	1337,521064	1290,721611
16	configuração 2	1194,841026	1105,371052	1235,97635	1178,729476
17	configuração 3	1086,126462	1299,004708	1244,187254	1209,772808
18	configuração 3	1172,17398	1222,391651	1175,427975	1189,997869
19	configuração 3	1122,091163	1097,873423	1146,140545	1122,035044
20	configuração 3	2480,845691	1763,937224	1573,833	1939,538638
21	configuração 3	1183,273811	1104,38553	1338,959002	1208,872781
22	configuração 3	1536,781074	1508,172295	1526,899969	1523,951113
23	configuração 3	1335,020563	1352,571101	1217,439805	1301,677156
24	configuração 3	1385,205407	1137,27651	1289,964305	1270,815407

ANEXO V  
AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE

CONCENTRAÇÃO	SEM A MATRIZ	COM A MATRIZ
<b>0,002</b>	225,2837	114,7592
<b>0,005</b>	433,7147	324,5368
<b>0,010</b>	843,7147	725,1357
<b>0,015</b>	1265,1110	1151,2690
<b>0,025</b>	2063,0740	1961,3890
<b>0,030</b>	2505,3340	2367,9350

Teste-F: duas amostras para variâncias

	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	1222,70535	1107,504
Variância	822828,8135	812901,3
Observações	6	6
gl	5	5
F	1,012212405	
P(F<=f) uni-caudal	0,494848446	
F crítico uni-caudal	5,050329058	
P(F<=f) uni-caudal	0,437611404	
F crítico uni-caudal	0,233434021	

FCalculado	1,0122
Ftabelado	5,0500

## ANEXO VI

## Análise de repetibilidade

Conc, mg/L	Intensidade corrigida	Concentração calculada	Média	Desvio padrão	Coefficiente de variação (CV), %	Análise de CV ( $CV_{calc} \leq 5\%$ )
0,020	2355,344	0,028	0,029	0,000	0,4	Aceitar
0,020	2372,276	0,029				
0,020	2366,250	0,029				
0,020	2356,100	0,028	0,029	0,000	0,3	Aceitar
0,020	2354,540	0,028				
0,020	2368,300	0,029				
0,020	2351,900	0,028	0,028	0,000	0,2	Aceitar
0,020	2358,100	0,029				
0,020	2351,670	0,028				
0,020	2325,880	0,028	0,028	0,000	0,8	Aceitar
0,020	2320,060	0,028				
0,020	2355,040	0,028				
0,020	2304,000	0,028	0,028	0,000	0,2	Aceitar
0,020	2309,640	0,028				
0,020	2314,190	0,028				
0,020	2360,650	0,029	0,029	0,000	0,3	Aceitar
0,020	2374,312	0,029				
0,020	2366,700	0,029				
0,020	2333,110	0,028	0,028	0,000	0,9	Aceitar
0,020	2301,160	0,028				
0,020	2293,870	0,028				
0,020	2245,230	0,027	0,027	0,000	0,7	Aceitar
0,020	2249,633	0,027				
0,020	2221,410	0,027				
0,020	2348,830	0,028	0,028	0,000	0,1	Aceitar
0,020	2349,378	0,028				
0,020	2344,980	0,028				
0,020	2328,152	0,028	0,028	0,000	0,7	Aceitar
0,020	2361,797	0,029				
0,020	2349,590	0,028				
Coeficientes da regressão linear						
b	8,11E+04					
a	44,5017					

## ANEXO VII

## Análise da repetibilidade

Nível de concentração: 0,0200 mg/L		
ANALISTA 1		ANALISTA 2
Dia: 08/03/22		Dia: 10/03/22
Réplica	Concentração mg/L	Concentração mg/L
1	0,019	0,020
2	0,020	0,020
3	0,020	0,020
4	0,020	0,020
5	0,020	0,020
6	0,020	0,020
7	0,020	0,020
8	0,020	0,020
9	0,020	0,020
10	0,020	0,021
11	0,020	0,020
12	0,019	0,020
13	0,020	0,020
14	0,020	0,020
15	0,020	0,020
16	0,020	0,022
17	0,020	0,021
18	0,020	0,021
19	0,020	0,021
20	0,019	0,021
21	0,020	0,021

<i>Teste F para duas variâncias</i>	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	0,019874	0,02036
Variância	1,33E-07	2,87E-07
Observações	21	21
gl	20	20
F	0,464873	
P(F<=f) uni- caudal	0,047285	
F crítico uni- caudal	0,470775	

## ANEXO VIII

Análise da recuperação

Análise da recuperação

<b>Selênio</b>	AA046LM:	0,0079	mg/L								
Nível de concentração	Concentração (mg/L)							Média	Desvio padrão	CV %	Recuperação
0,010	0,0102	0,0102	0,0103	0,0098	0,0098	0,0099	0,0098	0,0100	0,0002	2,2%	100%
Valor medido	0,01807	0,01806	0,0182	0,01766	0,0177	0,0178	0,0177				

ANEXO IX  
INCERTEZA SELÊNIO

**Incerteza da solução Se ( $u_{Se}$ )**

<b>Incerteza da solução estoque</b>	<b>1</b>	<b>mg/L</b>
<b>Concentração real</b>	<b>1</b>	<b>mg/L</b>
<b><math>\Delta</math>Temperatura</b>	<b>4</b>	<b>°C</b>

Grandeza ( $X_i$ )	Estimativa	Unidade	Incertezas			$u(X_i)$
			Calibração	$\Delta$ temperatura	Concentração	
$C_{MRC}$	1000	mg/L			6	3,00
$V_{MRC}$	0,0250	mL	0,00048	0,00002		0,0002
$V_{estoque}$	25	mL	0,00100	0,0210		0,0121

$u_{est}$	<b>0,010</b>	mg/L
-----------	--------------	------

<b>Incerteza da solução padrão</b>	<b>0,005</b>	<b>mg/L</b>
<b>Concentração real</b>	<b>0,005</b>	<b>mg/L</b>
<b><math>\Delta</math>Temperatura</b>	<b>4</b>	<b>°C</b>

Grandeza ( $X_i$ )	Estimativa	Unidade	Incertezas			$u(X_i)$
			Calibração	$\Delta$ temperatura	Concentração	
$C_{estoque}$	1,00	mg/L			0,010	0,005
$V_{estoque}$	0,1250	mL	0,00048	0,00011		0,00025

$V_{padr\tilde{a}o\ 1}$	25	mL	0,00100	0,0210		0,0121
-------------------------	----	----	---------	--------	--	--------

$u_{padrao}$	<b>0,0000</b>	mg/L	0,54%
--------------	---------------	------	-------

<b>Incerteza da solução padrão</b>	<b>0,01</b>	<b>mg/L</b>
------------------------------------	-------------	-------------

<b>Concentração real</b>	<b>0,01</b>	<b>mg/L</b>
--------------------------	-------------	-------------

Grandeza ( $X_i$ )	Estimativa	Unidade	Incertezas			$u(X_i)$
			Calibração	$\Delta$ temperatura	Concentração	
$C_{estoque}$	1,00	mg/L			0,010	0,005
$V_{estoque}$	0,2500	mL	0,00060	0,00021		0,00032
$V_{padr\tilde{a}o\ 2}$	25	mL	0,00100	0,0210		0,0121

$u_{padrao}$	<b>0,0001</b>	mg/L	0,52%
--------------	---------------	------	-------

<b>Incerteza da solução padrão</b>	<b>0,015</b>	<b>mg/L</b>
------------------------------------	--------------	-------------

<b>Concentração real</b>	<b>0,015</b>	<b>mg/L</b>
--------------------------	--------------	-------------

$C_{estoque}$	1,00	mg/L			0,010	0,005
$V_{estoque}$	0,3750	mL	0,00060	0,00032		0,00035
$V_{padr\tilde{a}o\ 3}$	25	mL	0,00100	0,0210		0,0121

$u_{padrao}$	<b>0,0001</b>	mg/L	0,51%
--------------	---------------	------	-------

<b>Incerteza da solução padrão</b>	<b>0,025</b>	<b>mg/L</b>
------------------------------------	--------------	-------------

<b>Concentração real</b>	<b>0,025</b>	<b>mg/L</b>
--------------------------	--------------	-------------

$C_{estoque}$	1,00	mg/L			0,010	0,005
---------------	------	------	--	--	-------	-------



$V_{estoque}$	0,6250	mL	0,00060	0,00053		0,00043
$V_{padrão 4}$	25	mL	0,00100	0,0210		0,0121

$u_{padrao}$	<b>0,0001</b>	mg/L	0,51%
--------------	---------------	------	-------

<b>Incerteza da solução padrão</b>		<b>0,03</b>	<b>mg/L</b>			
<b>Concentração real</b>		<b>0,03</b>	<b>mg/L</b>			
$C_{estoque}$	1,00	mg/L			0,010	0,005
$V_{estoque}$	0,7500	mL	0,00060	0,00063		0,00047
$V_{padrão 5}$	25	mL	0,00100	0,0210		0,0121

#### Incerteza da solução Se ( $u_{Se}$ )

<b>Incerteza da solução estoque</b>	<b>2</b>	<b>mg/L</b>
<b>Concentração real</b>	<b>-441,358</b>	<b>mg/L</b>
<b><math>\Delta</math>Temperatura</b>	<b>5</b>	<b>°C</b>

Grandeza ( $X_i$ )	Estimativa	Unidade	Incertezas			$u(X_i)$
			Calibração	$\Delta$ temperatura	Concentração	
$C_{MRC}$	-633	mg/L			7	3,50
$V_{MRC}$	-1120,8250	mL	0,00048	-0,94149		0,5442
$V_{estoque}$	-1608	mL	1,00100	-1,3510		0,9275

$u_{est}$	<b>2,462</b>	mg/L
-----------	--------------	------

<b>Incerteza da solução padrão</b>	<b>1,005</b>	<b>mg/L</b>
<b>Concentração real</b>	<b>-294,484</b>	<b>mg/L</b>
<b><math>\Delta</math>Temperatura</b>	<b>5</b>	<b>°C</b>

Grandeza ( $X_i$ )	Estimativa	Unidade	Incertezas			$u(X_i)$
			Calibração	$\Delta$ temperatura	Concentração	
$C_{estoque}$	-441,36	mg/L			2,462	1,231
$V_{estoque}$	49,8750	mL	0,00048	0,04190		0,02422
$V_{padr\tilde{a}o\ 2}$	75	mL	1,00100	0,0628		0,5018

$u_{padrao}$	<b>2,1455</b>	mg/L	-0,73%
--------------	---------------	------	--------

<b>Incerteza da solução padrão</b>	<b>1,01</b>	<b>mg/L</b>
<b>Concentração real</b>	<b>-294,732</b>	<b>mg/L</b>

Grandeza ( $X_i$ )	Estimativa	Unidade	Incertezas			$u(X_i)$
			Calibração	$\Delta$ temperatura	Concentração	
$C_{estoque}$	-441,36	mg/L			0,010	0,005
$V_{estoque}$	49,7500	mL	0,00140	0,04179		0,02417
$V_{padr\tilde{a}o\ 3}$	75	mL	0,00180	0,0626		0,0362

$u_{padrao}$	<b>0,0000</b>	mg/L	0,00%
--------------	---------------	------	-------

<b>Incerteza da solução padrão</b>	<b>1,015</b>	<b>mg/L</b>
<b>Concentração real</b>	<b>-294,981</b>	<b>mg/L</b>

$C_{estoque}$	-441,36	mg/L			0,010	0,005
$V_{estoque}$	49,6250	mL	0,00140	0,04169		0,02411

$V_{padr\tilde{a}o\ 4}$	74	mL	0,00180	0,0624		0,0361
-------------------------	----	----	---------	--------	--	--------

$u_{padrao}$	<b>0,0000</b>	mg/L	0,00%			
--------------	---------------	------	-------	--	--	--

<b>Incerteza da solução padrão</b>		<b>1,025</b>	<b>mg/L</b>			
<b>Concentração real</b>		<b>-295,485</b>	<b>mg/L</b>			
$C_{estoque}$	-441,36	mg/L			0,010	0,005
$V_{estoque}$	49,3750	mL	0,00140	0,04148		0,02398
$V_{padr\tilde{a}o\ 5}$	74	mL	0,00180	0,0620		0,0358

$u_{padrao}$	<b>0,0000</b>	mg/L	0,00%			
--------------	---------------	------	-------	--	--	--

<b>Incerteza da solução padrão</b>		<b>1,03</b>	<b>mg/L</b>			
<b>Concentração real</b>		<b>-295,74</b>	<b>mg/L</b>			
$C_{estoque}$	-441,36	mg/L			0,010	0,005
$V_{estoque}$	49,2500	mL	0,00140	0,04137		0,02392
$V_{padr\tilde{a}o\ 6}$	74	mL	0,00180	0,0617		0,0357



## ANEXO XI

## Análise da incerteza combinada

## Incerteza expandida Se

Símbolo	Grandezas de Influência			Distribuição de Probabilidade		Coeficiente de Sensibilidade		u <sub>i</sub>	G <sub>i</sub>	
	Fontes	Valor ±	Unidade	Tipo	Divisor	Valor	Unid.	pH		
<b>u<sub>a</sub></b>	Incerteza precisão intermediária	2,56	%	Normal	1,00	0,020	-	P = 68% 5,119E-04	20	93,65%
<b>u<sub>curva</sub></b>	Incerteza da curva analítica	0,0001	mg/L	Normal	2,00	1,000	-	3,470E-05	10.000	6,35%
<b>k =</b>	<b>2,13</b>		<b>U<sub>exp</sub> =</b>		<b>u<sub>c</sub> =</b>		<b>G<sub>lef</sub> =</b>			
			<b>0,0011 mg/L</b>		<b>0,0005</b>		<b>20,18</b>			
			<b>5,5%</b>							

## ANEXO XII

## Limite de quantificação

LQ-Limite de quantificação	Comprimento de onda	Elemento	Concentração	mg/L	Intensidade
LQ1	Se 196,026	Se	0,0008	0,002	223,4231263
LQ2	Se 196,026	Se	0,0008	0,002	216,1824163
LQ3	Se 196,026	Se	0,0009	0,0022	256,0215912
LQ4	Se 196,026	Se	0,0008	0,002	214,7276862
LQ5	Se 196,026	Se	0,0008	0,002	222,9179688
LQ6	Se 196,026	Se	0,0008	0,002	219,0676529
LQ7	Se 196,026	Se	0,0008	0,002	226,6763381
LQ8	Se 196,026	Se	0,0007	0,0017	200,3208214
LQ9	Se 196,026	Se	0,0008	0,002	231,9072523
LQ10	Se 196,026	Se	0,0007	0,0017	210,823234

## ANEXO XIII

## Teste comparativo

Nebulizador Ultrassônico				
concentração	intensidade1	intensidade 2	intensidade 3	média
branco	46,8919	46,773	47,1098	46,9249
0,005	51,2885	48,9134	55,0621	51,75466667
0,010	122,481	119,8074	125,9602	122,7495333
0,015	213,9807	222,896	215,2129	217,3632
0,025	410,6423	427,4006	412,8618	416,9682333
0,030	533,6558	526,0008	533,5302	531,0622667

Gerador de Hidretos				
Concentração	intensidade 1	intensidade 2	intensidade 3	média
Branco	80,62579283	89,11114697	94,6051766	88,1140388
0,002	241,9817715	246,1470811	247,9123691	245,3470739
0,005	482,3134988	520,498081	520,251312	507,6876306
0,010	854,0476966	895,4230472	901,5995935	883,6901124
0,015	1328,047895	1351,460004	1347,911194	1342,473031
0,025	2082,206003	2100,373892	2091,697564	2091,42582
0,030	2284,09403	2530,483291	2575,557002	2463,378108