

BOLETIM TÉCNICO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DO SOLO

PROCEDIMENTOS PARA
QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS-
TRAÇO POR ESPECTROFOTOMETRIA
DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM
MATRIZES DE INTERESSE
AMBIENTAL

Boletim Técnico - n.º 102 - p. 1-21 ano 2017
Lavras/MG
GOVERNO DO BRASIL

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS**

MINISTRO: Aloizio Mercadante

REITOR: José Roberto Soares Scolforo

VICE-REITORA: Édila Vilela de Resende Von Pinho

Diretoria Executiva: Marco Aurélio Carbone Carneiro (Diretor) e Nilton Curi (Vice-Diretor)

Conselho Editorial: Marco Aurélio Carbone Carneiro (Presidente), Nilton Curi, Francisval de Melo Carvalho, Alberto Colombo, João Domingos Scalon, Wilson Magela Gonçalves

Administração: Flávio Monteiro de Oliveira

Secretaria Geral: Késia Portela de Assis

Comercial/ Financeiro: Damiana Joana Geraldo Souza, Alice de Fátima Vilela

Revisão de Texto: Cleide Maria de Carvalho Vilela

Referências Bibliográficas: Elen Alvarenga Silva

Editoração Eletrônica: Marco Aurélio Costa Santiago, Patrícia Carvalho de Moraes, Renata de Lima Rezende

Impressão: Gráfica/UFLA



ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Universidade Federal de Lavras - EDITORA UFLA - Pavilhão 5 (Nave 2) - Caixa Postal 3037 - 37200-000 - Lavras, MG.

Telefax: (35) 3829-1551 Fone: (35) 3829-1089

E-mail: editora@ufla.br

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	5
2 COLETA DE AMOSTRAS	7
3 PREPARO DE AMOSTRAS	7
4 MÉTODOS PARA DIGESTÃO DE AMOSTRAS	9
4.1 Método USEPA 3051A	9
4.2 Método USEPA 3052	10
5 QUANTIFICAÇÃO DOS ELEMENTOS POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA (EAA)	11
6 OBTENÇÃO DE CURVAS-PADRÃO	13
7 CONTROLE DE QUALIDADE DA ANÁLISE	15
8 DETERMINAÇÃO DOS LIMITES DE DETECÇÃO (LD) E DE QUANTIFICAÇÃO (LQ)	15
8.1 Conceitos	15
8.2 Limite de detecção	16
8.3 Limite de quantificação	17
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	19
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

PROCEDIMENTOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS-TRAÇO POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM MATRIZES DE INTERESSE AMBIENTAL¹

João Gualberto Penha²
Geila Santos Carvalho³
Livia Botelho de Abreu⁴
Bruno Teixeira Ribeiro⁵
Enio Tarso de Souza Costa⁶
João José Marques⁵

1 INTRODUÇÃO

O termo elementos-traço (ET) tem sido utilizado para designar elementos químicos que ocorrem no ambiente em concentrações na faixa de mg kg^{-1} ou $\mu\text{g kg}^{-1}$. Como exemplo, em solos, seriam aqueles elementos em concentrações abaixo de 100 mg kg^{-1} (Guilherme et al., 2005). O termo ET engloba elementos considerados metais, metalóides e não metais (Hooda, 2010). Pierzynski et al. (1994) e Sparks (1995) também preferem usar o termo ET para definir metais catiônicos e aniônicos quando presentes em baixas concentrações no ambiente. Na caracterização de diferentes matrizes ambientais (e.g., solo, sedimentos, resíduos), outros termos também têm sido empregados, como metais traço, metais pesados e metais tóxicos, com significado mais ou menos equivalente.

As várias formas de poluição e contaminação⁷ do ambiente têm sido motivo de muitos estudos e pesquisas no sentido de minimizar os danos à natureza e à saúde humana. Entre as fontes de poluição ambiental por ET, podem-se destacar as fontes naturais e antropogênicas. Como exemplos de fontes naturais, existem

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor

²Graduado em Matemática, Mestre em Tecnologias e Inovações Ambientais, Departamento de Ciência do Solo, Técnico em Laboratório no DCS/UFLA

³Graduada em Química, Mestre e Doutora em Ciência do Solo, Técnica em Laboratório no DCS/UFLA

⁴Graduada em Química, Mestre em Ciência do Solo, Doutora em Química Analítica, Técnica em Laboratório no DCS/UFLA

⁵Graduado em Engenharia Agrônoma; Mestre e Doutor em Ciência do Solo; Professor no DCS/UFLA

⁶Graduado em Engenharia Agrônoma; Mestre e Doutor em Ciência do Solo; Professor no ICIAG/UFU

⁷Contaminação refere-se à concentração de uma substância acima de um valor de referência de qualidade (o valor *background*). Já o termo poluição é empregado para fazer referência a uma área que esteja contaminada a tal ponto em que são observados efeitos negativos aos organismos vivos.

as emissões vulcânicas, as deposições atmosféricas e o intemperismo de rochas e minerais. Para as fontes antropogênicas, podem ser citados os aterros sanitários, a aplicação de diversos insumos agrícolas, como os fertilizantes, corretivos e produtos utilizados no controle de pragas e doenças, as atividades industriais e de mineração, as quais promovem a concentração de alguns elementos em função dos processos de extração, além de produzir grandes quantidades de rejeitos. Esses materiais geralmente possuem elevados teores de Ni, Cr, Cu, Pb, Hg, Cd e Zn, que afetam severamente a vegetação, a qualidade da água e as atividades biológicas do solo, como respiração microbiana e decomposição da matéria orgânica, no próprio local e em áreas adjacentes (BAKER et al., 1994; VANGRONSVELD et al., 1997).

As principais formas de contaminação de solos por ETs são preocupantes devido à dificuldade na descontaminação desse sistema devido a sua complexidade e heterogeneidade (GUILHERME et al., 2005). Portanto, deve-se atentar para o uso de diversos produtos agrícolas (MCBRIDE; SPIERS, 2001), os quais podem aportar ET potencialmente poluentes ao solo. Existem alguns ET que são incluídos intencionalmente em fertilizantes e em formulações de rações animais pelo fato de serem nutrientes minerais como Zn, Fe, Mn, Ni, Cu, entre outros, o que pode resultar em elevadas concentrações desses elementos em esterco utilizados como fertilizantes orgânicos (MARCHI et al., 2009).

Vale ressaltar que a mobilidade e disponibilidade dos ETs não estão relacionadas apenas à sua concentração ou forma química, mas também às condições do meio. A variação de algumas características físicas e químicas, que muitas vezes ocorrem devido a ações antropogênicas, como pH, salinidade, potencial redox e teores de quelatos orgânicos na água, por exemplo, podem ocasionar a remobilização do ET para a fase aquosa (SANTOS et al., 2008), que normalmente é a mais preocupante do ponto de vista ambiental.

De forma geral, os solos possuem características únicas quando comparados a outros componentes da biosfera, como o ar e a água, pois, além de atuarem como um dreno para contaminantes, funcionam também como um tampão natural que controla o transporte de elementos químicos e outras substâncias para a atmosfera, hidrosfera e biota (KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 2001). Entretanto, análises e estudos de ET devem ser realizados também em outros compartimentos ambientais, pois alguns desses elementos, tais como Cd, Pb, Cr, As, são prejudiciais a várias formas de vida mesmo em baixíssimas concentrações.

Neste boletim, resumem-se os procedimentos para análises de ET, especificamente em amostras de solo, plantas e água, incluindo detalhes da determinação de limites de detecção e quantificação em espectrofotômetro de absorção atômica. Ressalta-se que o resultado analítico de um determinado ET apenas pode ser confiável se os limites de detecção forem reportados, o que algumas vezes não acontece em trabalhos científicos encontrados mesmo na literatura especializada. Este trabalho trouxe um “passo a passo” de algumas formas de determinação dos limites de detecção e quantificação para consulta pelos interessados.

2 COLETA DE AMOSTRAS

Para uma boa caracterização da amostra, deve-se considerar que, além da escolha do método analítico mais adequado, é essencial uma amostragem adequada. A amostragem é adequada quando a porção coletada do material representa com confiabilidade o atributo que se deseja quantificar na área de interesse.

Antes de se realizar uma coleta de amostras ambientais, é necessário conhecer todas as recomendações quanto aos procedimentos corretos a serem adotados para que a amostra seja representativa e livre de possíveis contaminações (Filizola et al., 2006). Vale ressaltar que a amostragem é a primeira fase de uma análise e, caso haja algum erro, o resultado final será equivocado, visto que não há nenhum procedimento a ser realizado no laboratório que seja capaz de corrigir um erro de amostragem no campo.

3 PREPARO DE AMOSTRAS

Todas as etapas de preparação das amostras envolvem cuidados e atenção, que se estendem desde a identificação adequada, o uso de ferramentas apropriadas para a coleta, até os sacos plásticos utilizados para armazenamento e transporte das amostras. Enfim, todo cuidado na etapa de preparo da amostra é fundamental para se garantir a precisão e a qualidade dos resultados.

O preparo das amostras varia de acordo com o material ou matriz que as constituem. A seguir são reportados os procedimentos específicos para o preparo de análise de amostras de solo, vegetal e água.

As amostras de solo devem ser secas em estufa com circulação de ar a 40 °C ou à sombra até massa constante, sendo em seguida, passadas em peneira de 2 mm

de abertura. Após esses procedimentos, as amostras, na fração terra fina seca ao ar (TFSA), são tratadas de formas específicas em função dos tipos de análises. Caso a análise seja para determinação de concentrações disponíveis de Zn, Cu, Fe, Mn e Ni pode-se utilizar o extrator Mehlich⁻¹, uma solução constituída por HCl 50 mmol L⁻¹ e H₂SO₄ 12,5 mmol L⁻¹, conforme a metodologia proposta por Nelson et al. (1953) e adaptada pela Embrapa (2009) ou outros extratores como DTPA e água destilada.

Já para determinação de teores totais e semi-totais de elementos-traço, faz-se necessário a coleta de uma parte representativa da amostra na fração TFSA (2 a 3 g), seguida da maceração de toda a subamostra em gral e pistilo de ágata até que todo o material passe por uma peneira de nylon com abertura de malha de 150 µm. Realizado esse procedimento, a abertura ou digestão da amostra pode ser feita em função de metodologias específicas que variam com a composição do material e com o elemento que se deseja quantificar.

As amostras de folhas, quando chegam ao laboratório, passam por um processo que envolve a lavagem das folhas com água corrente e enxague com água destilada. Dependendo das condições de impureza das folhas, elas devem ser mergulhadas cuidadosamente em soluções aquosas de HCl, enxaguadas com água corrente e, por último, com água destilada. Em seguida, as folhas devem ser colocadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar a uma temperatura máxima de 65 °C até massa constante. Depois de secas, as amostras são moídas em moinho mecânico até passagem por uma peneira com abertura de malha de 1 mm. O processo de digestão também varia em função da metodologia e dos elementos que se deseja quantificar.

As amostras de água requerem cuidados específicos de coleta e de preservação. A quantificação pode ser feita tanto na amostra filtrada e como na não filtrada para determinação da concentração de ET na fração solúvel e na total, respectivamente. A filtração é realizada em filtros com membranas de 0,45 µm. A preservação das amostras é realizada pela adição de HNO₃ concentrado para redução do pH para valor menor que 2, evitando assim a precipitação dos ETs. Para as amostras filtradas, essa etapa de acidificação deverá ser realizada somente após a filtração. Deve-se atentar com a qualidade e quantidade do ácido utilizado na preservação, devendo se utilizar ácido ultrapuro para evitar a contaminação e medir a quantidade adicionada para evitar a diluição dos ET. O ideal é quantificar o volume de ácido para corrigir o efeito da diluição. Para mais detalhes, consultar o “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA; AWWA; WEF, 2012).

Além da escolha conveniente do método analítico e estudo dos possíveis interferentes, torna-se essencial boa amostragem, preparação e solubilização da amostra para análise. Qualquer que seja o tipo de amostra, erros significativos poderão ser introduzidos se a etapa de preparação não for satisfatoriamente conduzida, principalmente quando as determinações forem em concentrações muito baixas, na faixa de partes por bilhão, $\mu\text{g L}^{-1}$.

4 MÉTODOS PARA DIGESTÃO DE AMOSTRAS

Atualmente, não existe uma técnica de preparo de amostra que seja universal. Devem ser observadas as especificidades do elemento a ser determinado e a constituição da amostra (HOENIG, 2001). As amostras de maneira geral se apresentam nas formas líquida ou sólida. Quando estão na forma líquida, muitas vezes uma simples filtragem é suficiente para sua posterior análise. Para amostras na forma sólida, existem alguns procedimentos e equipamentos que permitem a análise direta de sólidos e suspensões. Todavia, muitos laboratórios realizam a conversão do material sólido em uma forma dissolvida em solução, por meio de um processo de solubilização mediante um ataque ácido combinado com elevação de temperatura ou pressão, procedimento denominado de digestão ou abertura da amostra.

As técnicas mais comumente utilizadas para solubilização de amostras sólidas (e.g., solo, vegetal, fertilizantes e resíduos) seguem as metodologias preconizadas pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA). Entre as várias metodologias propostas pela USEPA, serão descritas de forma resumida duas metodologias muito utilizadas para digestão ou abertura de amostras de solo para quantificação de ETs, bem como uma metodologia para digestão ou abertura de amostras de tecido vegetal.

4.1 Método USEPA 3051A

Essa metodologia permite a extração de teores semi-totais de ETs. Colocam-se, em tubos de teflon, 0,50 a 1,00 g da amostra sólida após ser macerada e passada em peneira de nylon de 150 μm de abertura. Em seguida, adicionam-se 5 mL de ácido nítrico concentrado. Os tubos de teflon contendo as amostras e ácidos são hermeticamente fechados e levados ao forno digestor de micro-ondas onde ocorre

uma elevação da temperatura a 180 °C e pressão a 4,42 atm (65 psi). A elevação da temperatura e pressão, associada ao ataque ácido, promove a solubilização da matriz sólida tornando os elementos solúveis no extrato ácido. Depois de finalizada a rampa de aquecimento, que dura cerca de 10 minutos, a digestão é finalizada. Após um período de resfriamento das amostras, procede-se com a filtração para separação das frações que não foram solubilizadas no processo de digestão. Para garantir a retirada de todo o material aderido nas paredes internas do tubo de teflon, adicionam-se 5 mL de água destilada dentro dos tubos, a qual posteriormente é cuidadosamente despejada sobre o filtro para promover a lavagem da fração solúvel aderida ao filtro (USEPA, 2007).

4.2 Método USEPA 3052

Extração de teores totais de elementos-traço. Essa metodologia segue os mesmos procedimentos conforme descritos para a metodologia USEPA 3051A, diferindo apenas quanto ao extrator ácido utilizado. Nesta metodologia, utiliza-se uma combinação de HF e HNO₃ concentrados na proporção de 1:3. Essa mistura ácida é capaz de extrair os teores totais de ETs devido à capacidade do HF em solubilizar os compostos silicatados presentes nas amostras (USEPA, 1996). No entanto, vale ressaltar que esse método é perigoso, devido à manipulação do HF. No manuseio do HF não se deve usar vidrarias e sim, recipientes de teflon ou plástico.

Para a análise de tecido vegetal, pode-se fazer também a digestão nítrico-perclórica, que é constituída de uma mistura de HNO₃ com HClO₄ na proporção de 2:1. Para tanto, pesa-se 0,5 g de amostra do vegetal moída na fração de 1 mm, a qual é colocada em tubo de ensaio de vidro juntamente com 6 mL desta mistura de ácidos. O sistema de digestão pode ser aberto, sendo o aquecimento realizado em bloco digestor. A temperatura atinge, ao final, aproximadamente 200 °C, sendo lenta e gradativamente aumentada, de 50 em 50 °C a cada 30 minutos, aproximadamente. A digestão somente finaliza-se quando não mais houver emissão de fumaça dos tubos e redução do volume de ácido até cerca de 2 mL. Terminada a digestão, aguarda-se um período suficiente para que ocorra o resfriamento dos tubos e, em seguida, são adicionados 10 mL de água. Caso haja necessidade, o extrato deverá ser filtrado.

5 QUANTIFICAÇÃO DOS ELEMENTOS POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA (EAA)

No caso dos estudos ambientais, especialmente aqueles envolvendo os ETs, são exigidos métodos e equipamentos que possibilitam a quantificação em concentrações cada vez menores (CIENFUEGOS e VAITSMAN, 2000), sendo considerados como um dos mais importantes desafios para as mais variadas áreas do conhecimento. No entanto, para garantir a determinação de pequenas concentrações, é necessário que a sensibilidade do método e os limites de detecção e de quantificação do equipamento utilizado sejam baixos.

Dentre as várias técnicas analíticas disponíveis para a determinação de ETs, a EAA, seja por atomização em chama, eletrotérmica por forno de grafite ou gerador de hidretos, tem sido das mais utilizadas em análises ambientais (Figura 1). Esse fato pode ser explicado pela facilidade de operacionalização do equipamento e devido às características da técnica, tais como: alta especificidade, sensibilidade, robustez, baixos limites de detecção e custos relativamente baixos.

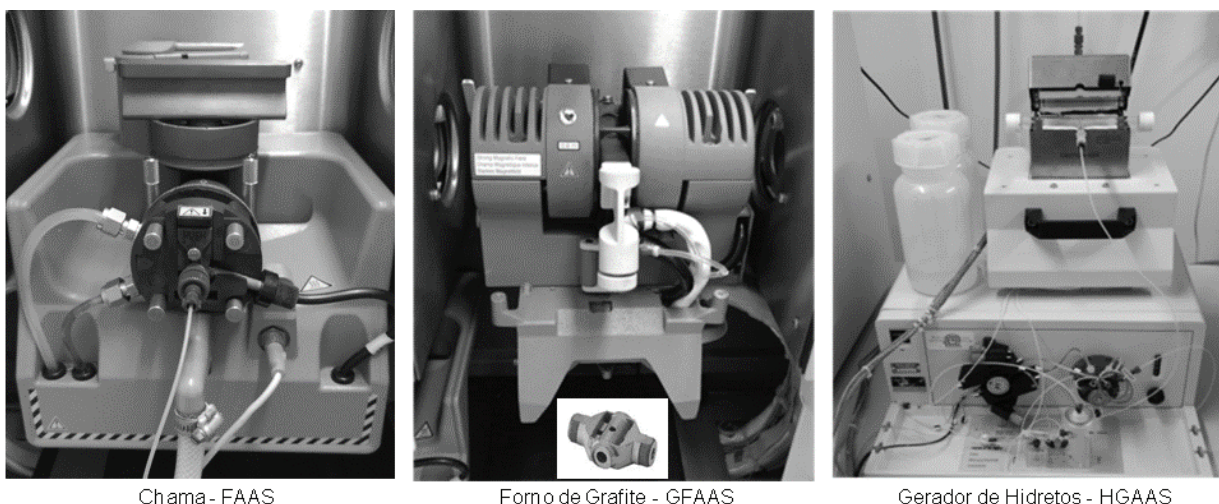


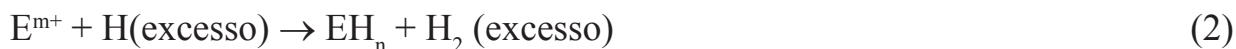
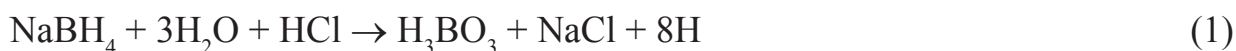
Figura 1 – Módulos de atomização em espectrofotometria de absorção atômica.

A espectrometria de absorção atômica é uma técnica espectroanalítica para determinações quantitativas de elementos baseada na absorção da radiação por átomos livres no estado gasoso (WELZ e SPELING, 1999). Essa técnica teve origem no trabalho pioneiro de Alan Walsh, publicado em 1955. Esse pesquisador propôs

o uso de uma chama composta de ar e acetileno para promover os íons e moléculas de elementos da amostra em átomos livres no estado gasoso, os quais interagiriam com o feixe de radiação específico, absorvendo-o (WALSH, 1995). Dessa forma, teve início a EAA com atomização por chama.

Com o crescente interesse da ciência por métodos analíticos mais eficientes, surgiram propostas de variações na técnica de Walsh. Essas propostas se baseavam na substituição da chama por um forno de grafite para atomizar os elementos contidos na amostra (RIBEIRO et al., 2002). A técnica de atomização por forno de grafite possibilita determinações de concentrações mais baixas, na ordem de partes por bilhão, enquanto as determinações na atomização por chama são em partes por milhão. Assim, foi introduzido o conceito e a técnica de EAA com atomização eletrotérmica. Desde então, várias contribuições e estudos permitiram que o método evoluísse e apresentasse condições de determinações multielementares e em níveis “traço” de concentração (SCATAMACHIA, 2006).

A geração de hidretos é outra forma de atomização, que se baseia na formação de hidretos de elementos capazes de gerar este tipo de composto, tais como As, Bi, Hg, Sb, Se, Sn e Te. Embora esses elementos possam também ser determinados pelas outras formas de atomização citadas, a determinação por gerador de hidretos consegue ser mais sensível. A técnica de geração de hidretos envolve a reação de amostras aquosas ácidas com um agente redutor, como o borohidreto de Na (NaBH_4), gerando uma reação descrita nas Equações 1 e 2:



em que: E = analito de interesse, podendo ser o m igual ou não ao n .

Estas reações geram um hidreto volátil, que é transportado para uma célula de quartzo por um gás carreador, o argônio. Na célula de quartzo, os hidretos, na forma gasosa, são atomizados, possibilitando a detecção do elemento de interesse, como o Hg.

O que determina o módulo que será utilizado para a quantificação das amostras (chama de ar acetileno, forno de grafite ou gerador de hidretos) é a concentração do elemento de interesse na amostra e o elemento químico, pois alguns elementos

(As, Bi, Hg, Sb, Se, Sn e Te) são mais adequadamente analisados por geração de hidretos. Com a técnica de chama é possível determinações em nível de mg L^{-1} , enquanto forno e gerador, por atomizarem a amostra em ambiente fechado, permitem que sejam determinadas concentrações na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$.

A espectrofotometria de absorção atômica é uma técnica analítica comparativa, que se baseia em curvas de calibração, que são construídas por meio de soluções com concentrações conhecidas do analito de interesse, que possuem absorbâncias características. Para se estabelecer os limites inferior e superior desta curva, deve-se obedecer a relação de precisão e exatidão das determinações, além da linearidade da curva.

6 OBTENÇÃO DE CURVAS-PADRÃO

Para obtenção das curvas-padrão devem ser utilizadas soluções-estoque certificadas do elemento de interesse. Normalmente, tais soluções estoque apresentam concentrações de aproximadamente 1.000 mg L^{-1} . Por meio de diluições sucessivas, obtêm-se diferentes valores da concentração do elemento a ser analisado. Como exemplo, na Tabela 1, são apresentados alguns valores de concentração de ETs comumente utilizados para a obtenção de curvas-padrão. É especialmente importante que todos os procedimentos para obtenção de uma curva-padrão sejam feitos em condições ótimas. Isso inclui o uso de água ultrapura, vidrarias e utensílios bem lavados e isentos de qualquer possibilidade de contaminação, etc.

Plotando-se no eixo das abscissas a concentração do elemento e no eixo das ordenadas, os valores de absorbância fornecidos pelo equipamento utilizado, ajusta-se um modelo linear do tipo $y = a + bx$. Uma boa curva-padrão será aquela com coeficiente de determinação (R^2) o mais próximo possível de 1, idealmente 0,9999. Na Figura 2 é apresentada uma curva-padrão típica para Cu em espectrofotômetro de absorção atômica (módulo chama). O ideal é que essa curva tenha no mínimo cinco pontos. A escolha do primeiro ponto da curva após o zero (Tabela 1), está relacionada com os limites de quantificação do equipamento, como será descrito em sequência. Por sua vez, o maior ponto da curva é estabelecido de forma a não ultrapassar a faixa de linearidade da relação concentração $\times$ absorção. Os valores intermediários da curva são considerados a faixa ótima de trabalho.

Tabela 1– Sugestões de concentração de ETs para obtenção de curvas-padrão.

Elemento	Pontos da Curva	Módulo
As (mg L ⁻¹)	0; 10; 20; 50; 75; 100	Chama
As (µg L ⁻¹)	0; 5; 10; 25; 50; 75; 100	Forno de grafite
Cd (mg L ⁻¹)	0; 0,10; 0,25; 0,50; 1,25; 2,50	Chama
Cd (µg L ⁻¹)	0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0	Forno de grafite
Pb (mg L ⁻¹)	0; 1,0; 2,0; 5,0; 7,5; 10,0	Chama
Pb (µg L ⁻¹)	0; 5; 10; 25; 50; 75; 100	Forno de grafite
Cu (mg L ⁻¹)	0; 0,25; 0,50; 1,0; 2,50; 5,0; 10	Chama
Cu (µg L ⁻¹)	0; 5; 10; 25; 50; 75; 100	Forno de grafite
Cr (mg L ⁻¹)	0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0	Chama
Cr (µg L ⁻¹)	0; 7,5; 15; 50; 75; 100	Forno de grafite
Fe (mg L ⁻¹)	0; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0	Chama
Fe (µg L ⁻¹)	0; 5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 75,0	Forno de grafite
Mn (mg L ⁻¹)	0; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0	Chama
Mn (µg L ⁻¹)	0; 10; 20; 25; 50; 75; 100	Forno de grafite
Ni (mg L ⁻¹)	0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0	Chama
Ni (µg L ⁻¹)	0; 7,5; 15; 50; 75; 100	Forno de grafite
Se (mg L ⁻¹)	0; 10; 15; 20; 30; 50	Chama
Se (µg L ⁻¹)	0; 7,5; 15; 30; 50; 75	Forno de grafite
Zn (mg L ⁻¹)	0; 0,12; 0,25; 0,50; 1,25; 2,50	Chama
Hg (µg L ⁻¹)	0; 5; 10; 20; 30; 40	Gerador de hidretos

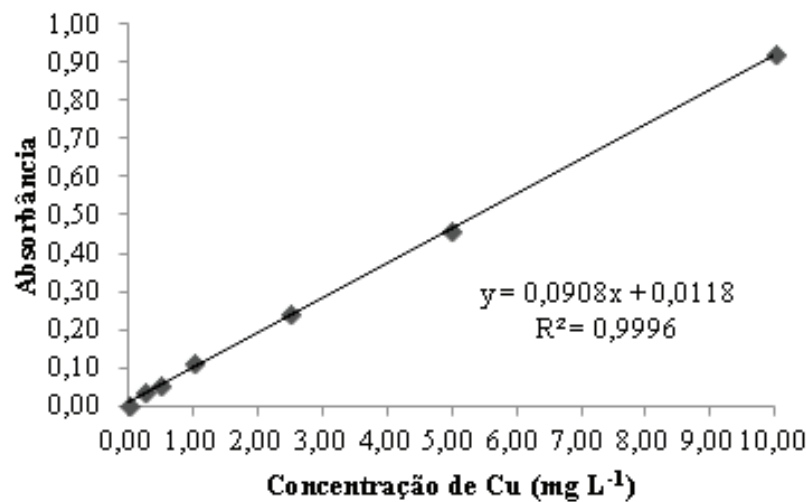


Figura 2 – Exemplo de uma curva-padrão para Cu em espectrofotômetro de absorção atômica com módulo chama.

7 CONTROLE DE QUALIDADE DA ANÁLISE

É importante durante a realização de uma análise, desde o procedimento de digestão até a quantificação, o uso de algum padrão certificado como referência. Existem vários padrões de certificação internacionais para diversas matrizes ambientais (Tabela 2).

Tabela 2 – Padrões de certificação comumente utilizados para controle de qualidade da análise.

Material	Padrões certificados *
Solo e sedimentos	NIST (2709a; 2710a, 2711a) e BCR (ERM CC690; BCR 700; BCR 484; BCR 142R, BCR 414, BCR 402, IRMM 804; BCR 100, BCR 482, BCR 670)
Material vegetal	NIST (1547, 1570a, 1573a, 1515)
Fertilizante	NIST (694, 695, 2780); BCR (032; 113, 114, 179)
Lodo de esgoto	BCR (143R, 145R, 146R)
Água	BCR (617, 609)

* Descrição das siglas dos padrões: NIST - National Institute of Standards & Technology (<https://www.nist.gov/srm>); BCR: Community Bureau of Reference e IRMM: Institute for Reference Materials and Measurements. (<http://www.sigmaaldrich.com/brazil.html>).

Os padrões de referência possuem concentrações conhecidas de uma grande quantidade de elementos de interesse. Para verificação da qualidade da análise, determina-se a porcentagem de recuperação (PR) desses padrões (Equação 3).

$$PR = \frac{C_d}{C_c} \times 100 \quad (3)$$

em que: PR é a porcentagem de recuperação (%); C_d é a concentração determinada para um dado elemento; C_c é a concentração certificada desse elemento na amostra referência. Considera-se, na rotina de análises do laboratório, que a PR é aceitável quando está entre 80 e 120 %.

8. DETERMINAÇÃO DOS LIMITES DE DETECÇÃO (LD) E DE QUANTIFICAÇÃO (LQ)

8.1 Conceitos

Limite de detecção é a menor concentração do analito que pode ser detectada em uma amostra, mas não, necessariamente, quantificada nas condições estabelecidas

do teste (NATA, 1997). Esse mesmo autor também define limite de quantificação como a concentração mais baixa de um analito que pode ser determinada com precisão aceitável (repetitividade) e exatidão, nas condições declaradas do teste.

8.2 Limite de detecção

O LD pode ser determinado pelo método proposto pela American Public Health Association (APHA; AWWA; WEF, 2012) (Equação 4).

$$LD = \left[\bar{x} + (t \cdot s) \right] \quad (4)$$

em que: LD é o limite de detecção (mg L⁻¹ ou µg L⁻¹ ou qualquer outra unidade); $\bar{x}$ é a concentração média do elemento de interesse em sete amostras-branco; t é o valor de *Student* a 0,01 de probabilidade e n - 1 graus de liberdade (para n = 7 e α = 0,01; t = 3,14); s é o desvio-padrão da média da concentração do elemento em n amostras-branco; e n é o número de amostras-branco utilizadas na determinação do LD (normalmente, sete).

Para determinação da concentração do elemento nas amostras consideradas branco pode ser utilizada apenas água ultrapura ou uma amostra que passou pelo processo de digestão adotado, porém sem o analito. Nesse último caso, faz-se referência ao LD como limite de detecção do método (LDM). Para cálculo do LDM, basta calcular o LD e depois multiplica-lo por eventuais diluições incluídas no método.

Outra forma de se calcular o LD baseia-se no método de parâmetros da curva analítica, que apresenta maior confiabilidade estatística, pois leva em consideração o intervalo de confiança da curva de regressão (RIBEIRO et al., 2008). O LD, neste caso, é definido como a concentração mínima de uma substância que pode ser medida e informada com 99 ou 95 % de confiança. Seu valor pode ser calculado por meio da Equação 5.

$$LD = \left(\frac{3 \cdot s}{a} \right) \quad (5)$$

em que: LD = Limite de Detecção; s = desvio padrão das leituras de amostras em branco e a = inclinação da curva (na verdade, uma reta) analítica.

Para o cálculo, uma curva analítica deverá ser feita utilizando a matriz/solução contendo o composto de interesse na faixa de concentração linear e que atenda as absorbâncias esperadas (RIBANI et al., 2004). A inclinação da curva é dada por a , o qual pode ser obtido através da equação da reta ($y = ax + b$).

8.3. Limite de quantificação

O limite de quantificação pode ser calculado através das Equações 6 e 7:

$$LQ = 10 \times S \quad (6)$$

$$LQ = 3 \times LD \quad (7)$$

em que: LQ = Limite de Quantificação; s = desvio padrão das leituras das amostras em branco e LD = Limite de Detecção.

Na prática, o limite de quantificação pode ser considerado o menor ponto da curva de calibração, excluindo o branco (ou “zero”). Este limite, após ter sido determinado, deve ser testado com amostras independentes, para averiguar se a tendência e a precisão conseguidas são satisfatórias (INMETRO, 2011).

Na Tabela 3 são apresentados valores de LD e LQ para alguns ETs em condições operacionais do Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, que foram obtidos em um equipamento espectrofotômetro de absorção atômica da Perkin Elmer, modelo AAnalyst 800.

Os valores apresentados na tabela 3 foram calculados a partir de leituras de sete amostras em branco (branco digerido: amostras que passaram por todo o processo de digestão somente com a adição do solvente) e utilizando a Equação 4, conforme APHA; AWWA; WEF (2012).

Tabela 3 – Limites de detecção e de quantificação para alguns elementos em espectrofotômetro de absorção atômica.

Módulo Chama de Ar-Acetileno				
Elemento	LDE ⁸ (mg L ⁻¹)	LDM ⁹ (mg L ⁻¹)	LQE ¹⁰ (mg L ⁻¹)	LQM ¹¹ (mg L ⁻¹)
As	4,83	2,49	14,48	7,47
Cd	0,03	0,03	0,08	0,08
Pb	0,31	0,30	0,91	0,90
Cu	0,10	0,09	0,29	0,25
Cr	0,23	0,20	0,68	0,60
Fe	0,46	0,31	1,37	0,92
Mn	0,03	0,01	0,08	0,04
Ni	0,10	0,10	0,29	0,29
Se	7,37	5,27	22,11	15,81
Zn	0,11	0,08	0,33	0,24
Módulo Forno de Grafite				
Elemento	LDE (µg L ⁻¹)	LDM (µg L ⁻¹)	LQE (µg L ⁻¹)	LQM (µg L ⁻¹)
As	1,28	4,28	3,83	12,84
Cd	0,12	0,11	0,36	0,32
Pb	0,53	2,28	1,59	6,85
Cu	1,23	0,84	3,68	2,54
Cr	1,38	7,39	4,14	22,17
Fe	1,54	6,69	4,61	20,07
Mn	0,97	0,87	2,90	2,60
Ni	4,82	0,86	14,45	2,58
Se	1,67	1,48	5,02	4,45
Módulo Gerador de Hidretos				
Elemento	LDE (µg L ⁻¹)	LDM (µg L ⁻¹)	LQE (µg L ⁻¹)	LQM (µg L ⁻¹)
Hg	0,08	0,16	0,24	0,48

Fonte: Penha (2016).

⁸LDE = Limite de Detecção do Equipamento

⁹LDM = Limite de Detecção do Método

¹⁰LQE = Limite de Quantificação do Equipamento

¹¹LQM = Limite de Quantificação do Método

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A quantificação de elementos-traço em matrizes de interesse ambiental (e.g., solos, sedimentos, plantas, água e fertilizantes) requer a escolha correta do método de digestão ou abertura das amostras e do equipamento para quantificação dos elementos, sendo de fundamental importância a determinação dos limites de detecção e de quantificação para que se tenha confiabilidade dos dados, sobretudo para os elementos presentes em concentrações-traço.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA); WATER ENVIRONMENT FEDERATION (WEF). Standard methods for the examination of water and wastewater. 22. ed. APHA, Washington, USA. 2012. 1496p.

BAKER, A. J. M. et al. The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. **Resources, Conservation and Recycling**, Amsterdam, v. 11, p. 41-49, 1994.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 606p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Ed. SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627p.

FILIZOLA, H. F.; GOMES, M. A. F.; de SOUZA, M. D. Manual de procedimentos de coleta de amostras em áreas agrícolas para análise da qualidade ambiental: solo, água e sedimentos. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. 169p.

GUILHERME, L. R. G. et al. Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 4, p. 345-390, 2005.

INMETRO. **Orientações sobre validação de métodos analíticos: documento de caráter orientativo**: DOQ-CGCRE-008: revisão 04-jul/2011. Rio de Janeiro, 2011b.

HOENIG, M., Preparation steps in environmental trace element analysis - facts and traps. *Talanta*, Amsterdam, v.54, p.1021-1038, 2001.

HOODA, P. S. **Trace elements in soil**. London: Wiley, 2010. 616 p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. Boca Raton: CRC, 2001. 331p.

MARCHI, G. et al. Elementos-traço e sua relação com qualidade e inocuidade de fertilizantes, corretivos agrícolas e resíduos orgânicos no Brasil. **Documentos**, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 45 p., 2009.

MCBRIDE, M. B.; SPIERS, G. Trace element content of selected fertilizers and dairy manures as determined by ICP-MS. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 32, p. 139-156, 2001.

NATA (National Association of Testing Authorities - Australia). Technical note 17. **Format and content of test methods and procedures for validation and verification of chemical test methods**. Sydney: NATA, 1997. 8 p.

NELSON, W.L. et al. The development, evaluation and use of soil test for phosphorus availability. IN: PIERRE, W.H.; NORMAN, A.G., eds. **Soil fertilizer phosphorus**. New York, Academic Press, 1953. p.153-188.

PENHA, J. G. Determinação dos Limites de Detecção e de Quantificação para Análise de Elementos-traço em amostras ambientais por Espectrofotometria de Absorção Atômica. **Dissertação de Mestrado**. Lavras: UFLA, 2016. 109 p.

PIERZYNSKI, G. M.; SIMS, J. T.; VANCE, G. F. **Soils and environmental quality**. Boca Raton: Lewis, 1994. 313 p.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, A. S.; ARRUDA, M. A. Z.; CADORE, S. Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio: uma revisão crítica. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 396-405, 2002.

RIBEIRO, F. A. L. et al. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 164-171, 2008.

SANTOS, J. S.; SANTOS, M. L. P.; OLIVEIRA, E. Estudo da mobilização de metais e elementos traços em ambientes aquáticos do semi-árido brasileiro aplicando análises de componentes principais. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, 1107-1111, 2008.

SCATAMACHIA, D. S. **Explorando a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e amostragem direta em superfície metálica para a determinação de bário**. 2006. 90 p. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. San Diego: Academic, 1995. 267 p.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. Method 3051A: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. In: SW-846. Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods; Office of solid Waste. Washington, DC: U. S. Environmental Protection Agency, 2007. 30 p. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2017.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. Method 3052: Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. In: SW-846. Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods; Office of solid Waste. Washington, DC: U. S. Environmental Protection Agency, 1996. p. 1-20. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3052.pdf> . Acesso em: 20 mar. 2017.

VANGRONSVELD, J.; COLPAERT, J. V.; TICHELEN, K. K. van. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: physicochemical and biological evaluation of the durability of soil treatment and revegetation. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 94, p. 131-140, 1997.

WALSH, A. The application of atomic absorption spectra to chemical analysis. **Spectrochimica Acta, Part B**, Melbourne, v. 7, p. 108-117, 1955.

WELZ, B.; SPELING, M. **Atomic absorption spectrometry**. Weinheim: Wiley-VCH, 1999. 941p.