

Manual de Procedimentos Analíticos para determinação de VRQ de elementos-traço em solos do Estado de Minas Gerais



© 2013 Fundação Estadual do Meio Ambiente

Governo do Estado de Minas Gerais

Antônio Augusto Junho Anastasia
Governador

Sistema Estadual do Meio Ambiente - Sisema

Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável - Semad

Adriano Magalhães Chaves
Secretário

Fundação Estadual do Meio Ambiente - Feam

Zuleika Stela Chiachio Torquetti
Presidente

Diretoria de Gestão da Qualidade Ambiental - DGQA

Liliana Adriana Nappi Mateus
Diretora

Gerência de Qualidade do Solo e Reabilitação de Áreas Degradadas - GESAD

Patrícia Rocha Maciel Fernandes
Gerente

Elaboração

Dra. Olguita Geralda Ferreira Rocha
Pesquisador CETEC

Dr. Juscimar da Silva
Pesquisador EMBRAPA Hortaliças

Dr. Jaime Wilson Vargas de Mello
Professor Associado. Depto. Solos - UFV

Dr. Walter Antônio Pereira Abrahão
Professor Adjunto. Depto. Solos - UFV

Equipe Técnica:

Renata Vilela Cecílio Dias - CETEC

Maurício Paulo Ferreira Fontes – UFV

Andréa Moreira de Carvalho- CETEC

José João Lelis Leal de Souza - UFV

Geraldo do Carmo- CETEC

Luiz dos Santos Junior – UFV

Adilson Rosa Filho- CETEC

Vanessa Ferreira de Paula – UFV

Eduardo Henrique Martins de Oliveira-
CETEC

Cecília Brustolini Rosado – UFV

Vitor José Pinto - CETEC

Hermínio Arias Nalini Junior - UFOP

Isaias Gomes da Silva- CETEC

Sandro Marcelo de Caires - IFNMG

Sumário

1.	Introdução	4
2.	Seleção do método de análise para determinação dos elementos traço	4
3.	Validação dos Métodos Analíticos	5
3.1	<i>Escolha dos Materiais e Reagentes</i>	5
3.2	<i>Reagentes Utilizados</i>	6
3.3	<i>Equipamentos</i>	6
3.4	<i>Validação do método analítico</i>	7
4.	Testes para Validação do Método EPA 3051a.....	9
4.1	<i>Avaliação da Interferência do Ácido Clorídrico na Determinação da Prata</i>	10
4.2	<i>Validação do Método de Amostragem para a Determinação de Hg</i>	11
5.	Determinação dos Teores de Elementos-traço e Metais em amostras de solo, utilizando o método USEPA SW-3051a.....	12
5.1	<i>Preparo das Amostras</i>	12
5.2	<i>Solubilização Ácida</i>	13
5.3	<i>Determinação dos teores dos elementos de interesse da Resolução 420 - CONAMA</i>	13
5.4	<i>Determinação de Elementos por AAS ou ICP-EOS com Geração de Hidretos e Vapor Frio</i>	15
5.4.1.	Dosagem de As e Sb	16
5.4.2.	Dosagem do Se	17
5.4.3.	Dosagem do Hg	18
6.	Resultados dos testes de validação	19
6.1.	<i>Recuperação da prata</i>	19
6.2.	<i>Validação da Amostragem para a Determinação de Hg</i>	20
6.3.	<i>Desempenho do método analítico</i>	20
6.4.	<i>Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ)</i>	20
6.5.	<i>Estimativa da Exatidão</i>	21
6.6.	<i>Precisão</i>	21
6.7.	<i>Cálculo da incerteza associada à medição</i>	21
6.8.	<i>Conclusão dos Testes de Validação do Método</i>	22
7.	Resumo do Método a ser adotado	22
8	Referências Bibliográficas	23

1. Introdução

O sistema de gestão da qualidade estabelece um conjunto de políticas e procedimentos para adequar seus processos às normas e legislações vigentes, demonstrando a competência do laboratório em realizar os ensaios e fornecer resultados com controle e garantia da qualidade. Nesse sentido, este documento contém a descrição detalhada dos procedimentos e métodos analíticos utilizados pelo grupo de trabalho responsável pelo Estabelecimento de Valores de Referência de Qualidade para Elementos Traço (ET's) - termo que será utilizado nesse guia no seu sentido amplo para agrupar os elementos químicos metálicos e semi-metálicos - em solos do Estado de Minas Gerais. Trata-se da primeira aproximação de um manual de procedimentos analíticos cujo objetivo principal é padronizar os métodos de análise de ET's em amostras superficiais de solos garantindo precisão e exatidão aos resultados. Adicionalmente, neste manual é apresentada a descrição detalhada dos procedimentos empregados na validação dos métodos analíticos o que permitirá que outros laboratórios, não participantes do grupo de trabalho, possam calibrar seus métodos e comparar os resultados obtidos aos valores de referência de qualidade adotados no Estado.

Sendo um processo a ser constantemente melhorado, todas as eventuais contribuições serão consideradas, pois, fornecerá subsídios para a padronização dos procedimentos a serem adotados e como consequência a interpretação dos dados gerados por vários laboratórios do Estado com maior confiabilidade.

2. Seleção do método de análise para determinação dos elementos traço

O método selecionado deve sempre que possível ser baseado em recomendações de órgãos reguladores oficiais. No presente manual o método adotado seguiu a resolução N^o. 420 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (CONAMA, 2009), que estabelece o uso do método de solubilização ácida da Agência Ambiental Norte Americana (USEPA) SW 3050 ou suas derivações. Nesse sentido, o grupo de trabalho composto por pesquisadores da Fundação Centro Tecnológico do Estado de Minas Gerais – CETEC, da Universidade Federal de Viçosa - UFV e da Fundação Estadual do Meio

Ambiente - FEAM, adotou para o estado de Minas Gerais o método USEPA SW-846 3051a (USEPA, 2007), que promove a solubilização ácida parcial da amostra em forno de micro-ondas, utilizando os ácidos nítrico (HNO_3) e clorídrico (HCl) concentrados.

3. Validação dos Métodos Analíticos

Para validação do método adotado foram realizados alguns testes, principalmente para determinação de alguns elementos-chave, como a prata e o mercúrio. Atenção especial foi dada também na escolha do tipo de material utilizado, as etapas de limpeza e descontaminação dos mesmos.

3.1 Escolha dos Materiais e Reagentes

Foram utilizados frascos, balões, béqueres e ponteiras de material plástico, teflon, polipropileno ou PFA para evitar contaminação de alguns elementos presentes no vidro, como por exemplo, alumínio e boro. Todos os balões volumétricos apresentavam certificado de calibração.

Antes de serem utilizados, todos os materiais foram previamente imersos numa solução de 20% HNO_3 + 1% detergente P.A. (Triton[®] X100) por no mínimo 12 horas, exceto os tubos de teflon utilizados na solubilização ácida em forno de micro-ondas, cuja descontaminação foi feita conforme recomendação do fabricante. Decorridos os tempos de limpeza, os materiais eram enxaguados com água purificada a partir de osmose reversa, sendo o último enxágue com água padrão ultrapura ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). Depois de lavados, os materiais foram secados em estufa com circulação forçada de ar a 50°C .

Todos os reagentes químicos utilizados no trabalho foram de alto grau analítico, padrão ACS ISO. As soluções padrão utilizadas para confecção das curvas de calibração e as soluções controle apresentavam certificado de calibração. Para o preparo de soluções e diluições foi utilizada água padrão ultrapuro (Milli-Q[®], $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

3.2 Reagentes Utilizados

Os reagentes a serem utilizados devem ser de reconhecida qualidade desde a água, gases, ácidos, soluções e solos de referência. A título de exemplo, são citados os materiais, reagentes e procedimentos utilizados em um dos laboratórios do grupo de trabalho.

- solução de referência certificada – Multi Elemento Standard IV 1 g/L lote OC 561224 (Merck);
- solução de referência certificada – Multi Elemento Standard XVI 100 µg/L lote HC 619805 e Multi Elemento Standard IV 1 g/L HC 825498 (Merck); usadas para controle das curvas de calibração.
- Acido nítrico purificado por sub-ebulição, a partir do ácido nítrico P.A. Merck;
- Acido nítrico P.A Merck;
- Ácido clorídrico P.A Merck
- Água padrão ultrapuro (Milli - Q[®]) resistividade 18,2 MΩ cm⁻¹;
- Gás utilizado - Argônio líquido 5.1- pureza 99,999%;
- Nitrogênio - pureza 99,999%
- Materiais de referência padrão – SRM 2709a, 2710a e 2711a que correspondem respectivamente aos nomes comerciais San Joaquim Soil, Montanna Soil I moderately elevated trace metal content e Montana Soil II highly elevated trace metal content – da National Institute of Standard and Technology – NIST

3.3 Equipamentos

Nos processos de validação, controle e análise das amostras de interesse do trabalho foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Espectrofotômetro de emissão atômica com fonte de indução de plasma acoplado - ICP-OES: Perkin-Elmer modelo Optima 3000 ou superior, sequencial, com vistas Axial ou Radial, alimentado com amostrador automático Perkin Elmer, AS-90 plus.

- Espectrofotômetro de absorção atômica Perkin-Elmer modelo 5100, acoplado com forno de grafite, com efeito Zeeman transversal HGA 600, alimentado por amostrador automático AS 70 e processador de dados;
- Purificador de ácidos por sub-ebulição da marca BERGHOF;
- Sistema de purificação de água por osmose reversa e sistema de ultrapurificação de água - Milli-Q® Element da Millipore.
- Estufa de ventilação Mecânica MOD 320E – Marca FANEM, revestida internamente com aço inox.
- Digestor com aquecimento por Micro-ondas, com sensor para medir temperatura: Marca Questron - Mod. Q WAVE 3000 VHP ou Mars Xpress, CEM Corporation.

3.4 Validação do método analítico

Esta etapa foi necessária para confirmar se o procedimento analítico empregado para uma série de análise específica é adequado ao propósito para o qual se está sendo utilizado, devendo ser uma prática fundamental para a obtenção de resultados com o alto grau de confiabilidade.

De modo geral, os métodos devem ser validados ou revalidados sempre que for necessário checar se os parâmetros de desempenho são adequados para o uso numa determinada condição analítica particular. Assim a validação ou a revalidação deve ser realizada nas seguintes situações:

- quando um novo método está sendo desenvolvido;
- antes de um método já existente ser introduzido em rotina;
- quando há modificação de um método para adequar a uma situação específica;
- se houve modificação nas condições em que o método foi validado (por exemplo: mudança de analista, ou de equipamento);
- se houve alteração nos objetivos para os quais foram propostos;
- quando o controle de qualidade indicar que a performance do método está variando com o tempo;
- para demonstrar a equivalência entre dois métodos (por exemplo: um método padrão e um novo método);

- quando se deseja assegurar que um método padronizado está sendo utilizado corretamente.

A AOAC/FAO/IAEA/IUPAC (FAJGELJ A. & AMBRUS A., 2000) utilizam o termo verificação quando o laboratório utiliza apenas algumas características de validação, como por exemplo: exatidão e precisão; ou seja, quando o método já foi validado externamente, mas é usado em uma nova matriz ou usando novos instrumentos, ou novos operadores, ou quando houver mudança de lotes de reagentes ou ainda quando o método validado ou verificado pelo laboratório tem sido utilizado por longo período de tempo.

A terminologia e as formas de cálculos utilizadas são extremamente variáveis, levando a dúvida na aceitação da validação ou verificação de métodos, sendo que em todo o mundo têm sido feitos esforços no sentido de padronização na área. Esforços cooperativos de organizações internacionais resultaram em protocolos harmonizados relativos a vários aspectos da análise química. Esses protocolos possuem larga aceitação internacional e têm contribuído para a confiabilidade e comparabilidade de resultados analíticos.

Organizações internacionais tais como ISO, CITAC, EURACHEM, RELACRE e nacionais como ABNT e INMETRO têm publicado recomendações, objetivando harmonizar os procedimentos a serem adotados para validação de metodologias para vários ensaios orgânicos e inorgânicos aplicáveis a matrizes diversas. Espera-se que com essa harmonização uma mudança de filosofia e conseqüentemente de legislações internacionais relacionadas à aceitação de validação ou verificação, e métodos analíticos aplicáveis à segurança a saúde, ao comércio e a propósitos similares.

A maioria dos documentos, provenientes de organismos oficiais recomendam que sejam avaliados características de desempenho analítico, tais como:

- Especificidade e Seletividade
- Faixa de trabalho e Faixa linear de trabalho
- Linearidade
- Sensibilidade

- Limite de detecção
- Limite de quantificação
- Exatidão e tendência (bias)
- Precisão
- Robustez.
- Incerteza de medição

O grau de validação ou revalidação dependerá da aplicação do método, dos equipamentos utilizados, das circunstâncias em que o método está sendo utilizado, da extensão das variações feitas em um determinado método e do objetivo do laboratório ao se utilizar a metodologia escolhida. Se o laboratório está utilizando um método validado por uma organização internacional, como por exemplo, AOAC ou EPA, normalmente o usuário necessitará somente estabelecer critérios de avaliação de desempenho. De qualquer forma, sempre algum grau de validação, por menor que seja deve ser efetuado em qualquer método que o laboratório deseja introduzir na sua rotina de trabalho.

No presente trabalho, como o método utilizado para a determinação dos elementos em solo foi o EPA SW-3051a, no processo de validação foram adotados os seguintes parâmetros de desempenho: exatidão, precisão, e limite de quantificação, além do cálculo da incerteza.

4. Testes para Validação do Método EPA 3051a

Foram efetuados testes para verificação do desempenho do método para as amostras de solo do Estado de Minas Gerais incluindo amostragem, interferência do ácido clorídrico na recuperação da prata, temperatura de armazenamento de amostras para ensaio de mercúrio, além da determinação dos parâmetros de interesse em materiais de referência.

No presente trabalho a avaliação dos parâmetros de desempenho do método foi limitada devido à ausência de amostras de referência com teores certificados para o método adotado (EPA SW-3051a). Como alternativa foram utilizados três materiais de referência – SRM 2709a, 2710a e 2711a, denominados respectivamente *San Joaquim soil*, *Montanna II Soil moderately elevated trace metal content* e *Montana I Soil highly elevated trace metal*

content – da *National Institute of Standard and Technology* – NIST. Nos certificados desses materiais, foram considerados os teores obtidos pelo método SW 846 3050b por diferentes laboratórios de referência. Embora esse não seja o método adotado, sua execução é muito similar ao EPA SW 3051a, permitindo a comparação dos resultados.

Os valores da média dos valores relatados para o método EPA SW-3051a foram considerados como meta de exatidão, que reflete o quanto o método utilizado se aproxima do valor de referência. Os resultados também foram considerados para a calibração do forno de micro-ondas às condições de pressão, temperatura e tempo de solubilização, conforme proposto por USEPA (2007). A estimativa da precisão do método foi avaliada por meio da análise de sete repetições de cada amostra de referência.

A reprodutibilidade foi avaliada a partir da comparação interlaboratorial. Participaram desse processo os laboratórios de Geoquímica do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, o Laboratório de Análises Químicas da Fundação Centro Tecnológico do Estado de Minas Gerais e o Laboratório de geoquímica da Universidade Federal de Ouro Preto.

4.1 Avaliação da Interferência do Ácido Clorídrico na Determinação da Prata

A prata (Ag) é um dos elementos constantes na resolução CONAMA, cujo valor de referência em solos deve ser determinado. Como o método USEPA 3051a (USEPA, 2007), recomenda a adição de ácido clorídrico (HCl) combinado com o ácido nítrico (HNO₃) foram realizados testes com o objetivo de se verificar a eficiência da recuperação da Ag, considerando que eventualmente poderia haver formação de precipitado insolúvel de cloreto de prata (AgCl).

Porções de cerca 0,5000 g das amostras de solo foram pesadas e transferidas para tubos de Teflon[®] específicos para o forno de micro-ondas e enriquecidas com solução padrão de Ag em quantidade suficiente para atingir a concentração de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ na solução de leitura, após a diluição da solução digestora para balões de 50 ml.

Essa quantidade equivale a um teor de $2,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ag no solo, que é considerado o valor de alerta, conforme resolução do CONAMA (2009). Após o enriquecimento, as amostras foram submetidas à solubilização ácida, utilizando 9 mL do ácido nítrico P.A.. Em outro grupo, alíquotas das mesmas amostras foram solubilizadas com 9 mL de ácido nítrico e 3 mL ácido clorídrico P.A., conforme método EPA SW 3051a. As soluções ácidas utilizadas para solubilização das amostras, sem a presença de solo, também foram enriquecidas com a mesma concentração de Ag. O ensaio foi realizado em triplicata.

4.2 Validação do Método de Amostragem para a Determinação de Hg

A preservação a baixas temperaturas é comumente adotada em procedimentos de coleta de amostras para determinação de Hg. Este procedimento é aconselhado em protocolos de coleta, principalmente para amostras de água, visando evitar possíveis perdas por volatilização do elemento, sobretudo quando se pretende realizar análises de especiação química. Por outro lado, para determinação de concentrações totais ou semi-totais de elementos traço em amostras de solo, a coleta e o transporte geralmente são efetuadas a temperatura ambiente. Diante disso, optou-se pela realização de testes preliminares para avaliar possíveis perdas de Hg por volatilização em amostras de solos coletadas, armazenadas e transportadas à temperatura ambiente.

Amostras de um Latossolo Amarelo (LA) e um Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA) foram coletadas em áreas próximas ao município de Paracatu, Minas Gerais, onde não há registro da ocorrência de Hg. Além disso, amostras de sedimentos contaminadas com Hg foram coletadas nos distritos de Furquim e Monsenhor Horta, áreas próximas ao município de Mariana - MG, e no distrito de Antônio Pereira, próximo a Ouro Preto - MG, ambas as regiões com histórico de uso de Hg em garimpo.

Em cada ponto de coleta foram retiradas 10 subamostras que foram homogeneizadas para obtenção de uma amostra composta. As amostras compostas foram acondicionadas em sacos plásticos, sendo uma porção da amostra armazenada e transportada a temperatura inferior a $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$, dentro de

caixa térmica contendo placas de gelo e com registro de temperatura, e outra porção transportada à temperatura ambiente. As amostras preservadas a baixa temperatura foram congeladas e liofilizadas. As amostras não preservadas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C por 48 h, conforme procedimento padrão adotado para retirada da umidade. Antes da etapa de solubilização ácida, todas as amostras foram trituradas e passadas em peneiras de 200 mesh (0,074 mm).

A solubilização ácida das amostras foi realizada em forno micro-ondas (marca CEM, modelo MDS 2000), seguindo os procedimentos propostos no método USEPA SW 846 3051a (USEPA, 2007). Do extrato obtido foi retirada uma alíquota de 5 mL à qual foi adicionado 1mL de solução de HCl 30%, contendo 6 mg L⁻¹ de Au. A concentração final de HCl e Au na solução de leitura foi de 5% e 1 mg L⁻¹, respectivamente.

Para validação do método analítico foram utilizadas as seguintes amostras certificadas: uma amostra de sedimento - SRM IAEA 433 da International Atomic Energy Association e uma amostra de solo - SRM San Joaquin Soil 2709a do National Institute of Standard & Technology (NIST). Essas amostras também foram passadas em peneira de 200 mesh e uma porção foi secada em estufa a 40 °C por 48 h para efeito de comparação.

5. Determinação dos Teores de Elementos-traço e Metais em amostras de solo, utilizando o método USEPA SW-3051a.

Para a determinação dos teores semitotais ou “lixiviáveis” (USEPA, 2007) de diferentes elementos químicos de relevância ambiental foram utilizadas amostras de referência e 499 amostras de solos coletadas no estado de Minas Gerais, devidamente armazenadas no Banco de Solos de Minas Gerais, sob a guarda do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa.

5.1 Preparo das Amostras

Aproximadamente 5,0 g de cada amostra de solo foram trituradas em gral (almofariz) de ágata e passadas em peneira de aço inox com abertura de

200 mesh (0,074 mm). Depois de peneiradas as amostras foram armazenadas em frascos plásticos, previamente limpos, para análises posteriores.

Antes de cada série de solubilização ácida, as amostras foram secadas a 40 °C por 48 horas em estufa de aço inox, com circulação forçada de ar e mantidas em dessecador até resfriamento a temperatura ambiente, para evitar a reabsorção de umidade.

5.2. Solubilização Ácida

Porções de aproximadamente 0,5000 g de cada amostra de solo foram pesadas e transferidas para tubos de Teflon[®] específico do forno de micro-ondas. Em seguida, foram adicionados 9,0 mL de ácido nítrico e 3,0 mL de ácido clorídrico, ambos concentrados, P.A e destilados. A solubilização foi efetuada nos digestores com aquecimento por micro-ondas nas seguintes condições operacionais:

- Potência = (650W – 1000 W);
- Pressão aproximada 130 psi (\cong 9 atm);
- Temperatura aproximada de 175°C,
- Tempo de rampa (Ramp) = 5 min. e 30 seg.;
- Tempo sobre pressão (hold) = 4 min. e 30 seg.

Após o período de reação, aguardou-se o tempo necessário para o equilíbrio térmico dos frascos à temperatura ambiente. Em seguida, os tubos foram abertos, em capela com sistema para exaustão de gases, e os extratos foram filtrados para balões de PFA (BRAND[®]) completando-se o volume para 50 mL com água ultrapura ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). Após homogeneização, a solução foi armazenada em frasco plástico previamente limpo e armazenados em refrigerador a 4°C até a análise.

5.3. Determinação dos teores dos elementos de interesse da Resolução 420 - CONAMA

A determinação dos teores de prata (Ag), alumínio (Al), boro (B), bário (Ba), cádmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), estrôncio (Sr), ferro (Fe), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), chumbo (Pb), vanádio (V) e zinco (Zn) foi realizada em espectrofotômetro de emissão atômica com fonte de

indução de plasma acoplada (ICP-OES). Usou-se uma mistura de detergente e ácido (1% HNO₃ e 0,05% Triton-X 100) como solução de limpeza, realizada entre cada leitura do ICP-OES. Adicionalmente, uma solução multielementar foi utilizada como controle visando identificar eventuais instabilidades do ICP. Essa solução foi analisada periodicamente a cada leitura de 10 amostras, admitindo-se variação entre leituras de 90 a 110% da concentração do controle. Quando o valor obtido não se apresentava dentro do limite estipulado nova curva de calibração era feita. As condições operacionais do ICP são apresentadas na Tabela 1.

Antimônio (Sb), arsênio (As), mercúrio (Hg) e selênio (Se) foram dosados por geração de hidretos, utilizando separador gás-liquido (Perkin Elmer) acoplado a ICP (HG-ICP/OES) ou a Absorção Atômica (AAS- HG). Como a eficiência da reação de redução para a geração de hidretos é dependente do estado de valência do analito e, usualmente, tais reações se processam melhor nos menores valores, para assegurar que os elementos atendam a esse quesito uma etapa de pré-redução foi conduzida antes da geração de hidretos, exceto para o Hg. Uma descrição mais detalhada dos procedimentos serão apresentadas no tópico específico da técnica.

As condições operacionais utilizadas os ensaios realizados estão descritas de forma resumida no Quadro 1.

Quadro 1. Condições operacionais do ICP OES utilizadas nos ensaios realizados .

INSTRUMENTO	CONDIÇÃO OPERACIONAL
ICP-OES	
Potência de radiofrequência (W)	1400
Plano de visão	Axial; Radial
Plasma (L min. ⁻¹)	15
Nebulizador (L min. ⁻¹)	0,8
Gás auxiliar (L min. ⁻¹)	0,7
Retardamento da leitura (s) ¹	45
Tempo de integração (s) ¹	2 – 5
Vazão da bomba peristáltica (mL min. ⁻¹) ¹	1,5
Número de leituras ¹	3
Comprimentos de onda utilizados (nm)	Ag, 328,068; Al, 308,215; B, 208,891; Ba, 233,527; Cd, 226,707; Co, 228,616; Cr, 267,717; Cu, 324,752; Fe, 259,959; Mn, 267,610; Mo, 202,034; Ni, 231.604; Pb 220.353; Sr, 421.256; V, 292.40,; Zn, 213,859.
Auto-amostrador	
Vazão da bomba mL min. ⁻¹	1,5
Tempo limpeza entre amostras(s)	50

5.4. Determinação de Elementos por AAS ou ICP-EOS com Geração de Hidretos e Vapor Frio

Arsênio (As), antimônio (Sb) e selênio (Se) foram dosados utilizando-se técnica de geração de hidretos, e o mercúrio (Hg) com geração de vapor frio com SnCl₂.

Como no sistema de geração de hidretos, o HNO₃, usado na digestão, é indesejável, pelo seu caráter oxidante, pode-se eliminá-lo dos extratos por evaporação.

Um método utilizado pela UFV, constou da retirada de uma alíquota de 5 mL do extrato e adicionou-se 2 mL de H₂SO₄ concentrado. A mistura foi evaporada em placa aquecedora a 180 °C até que o volume remanescente se igualasse ao do H₂SO₄ adicionado (2 mL). Em seguida, o extrato foi retomado até volume final de 10 mL com solução de HCl 6 mol L⁻¹

5.4.1. Dosagem de As e Sb

Conforme já mencionado, foi utilizada a técnica de geração de hidretos. Contudo, antes da pré-redução foi necessário a remoção do ácido nítrico que reage com o iodeto (pré-redutor) interferindo na redução do As. Para tanto, uma alíquota de 5 mL de cada extrato foi juntada a 2 mL de ácido sulfúrico concentrado P.A. e colocada para evaporar sobre chapa aquecedora a 180°C até que o volume remanescente se igualasse ao do H₂SO₄ adicionado. Em seguida, o material foi retomado utilizando solução de HCl 6 mol L⁻¹ até o volume final de 10 mL.

A etapa de pré-redução do As(V) para As(III) foi realizada adicionando solução de iodeto de potássio (KI 5% p/v) + ácido ascórbico (5% p/v) suficientes para atingir 0,2% v/v (cerca de 0,45mL) na solução de leitura de 10 mL. Depois de 30 min. a dosagem do As e Sb foi realizada com auxílio de auto-amostrador (Perkin Elmer, AS-90 plus) configurado para promover lavagem entre amostras, utilizando uma solução de HCl a 10% para limpeza (Quadro 2). Solução de tetraidroborato de sódio (NaBH₄) 0,5% estabilizada com NaOH 0,05% foi utilizada como agente redutor. Uma solução contendo 5,0 µg L⁻¹ de As e 1,0 µg L⁻¹ de Sb foi utilizada como controle para corrigir possíveis instabilidades do aparelho. Essa solução foi analisada periodicamente a cada 10 amostras, admitindo-se variação entre leituras de 80 a 120%. Quando a concentração lida não se apresentava dentro desse intervalo o equipamento era recalibrado por meio da leitura da curva padrão de calibração. O intervalo da curva de calibração para As e Sb variou de 0,5 a 20 µg L⁻¹.

Quadro 2. Condição operacional para gerador de hidretos acoplado ao ICP/OES para dosagem de As e Sb.

INSTRUMENTO	CONDIÇÃO OPERACIONAL
ICP-OES	
Potência de radiofrequência (W)	1400
Plano de visão	Axial
Plasma (L min. ⁻¹)	15
Nebulizador (L min. ⁻¹)	0,5
Gás auxiliar (L min. ⁻¹)	0,3
Tempo de integração (s)	2 - 5
Retardamento da leitura (s)	40
Vasão da bomba peristáltica (mL min. ⁻¹)	1,5
Repetição das leituras	3
Comprimentos de onda utilizados (nm)	As (193,697); Sb (206,836)
Gerador de hidretos	
Redutor	NaBH ₄ 0,5% + NaOH 0,05%
Fluxo do redutor (mL min. ⁻¹)	3,0
Fluxo da amostra (mL min. ⁻¹)	1,5
Auto-amostrador	
Vasão da bomba (mL min. ⁻¹)	1,5
Tempo limpeza entre amostras (s)	60

5.4.2. Dosagem do Se

A pré-redução do Se(VI) para Se(IV) foi realizada adicionando lentamente 4 mL de HCl concentrado (7 mol L⁻¹ na solução final) a 3 mL do extrato, seguido de aquecimento a 90°C por duas horas em banho-maria. Depois desse período, o extrato foi deixado esfriar até atingir equilíbrio térmico com o ambiente.

A dosagem do Se foi realizada seguindo as mesmas condições operacionais descritas na etapa anterior (Quadro 2), utilizando o comprimento de onda de 196,029 nm. Uma solução contendo 5,0 µg L⁻¹ de Se foi utilizada como controle para corrigir possíveis instabilidades do aparelho. Essa solução foi analisada periodicamente a cada 10 amostras, admitindo-se variação entre leituras de 80 a 120%. Quando a concentração lida não se apresentava dentro desse intervalo o método era recalibrado por meio da leitura da curva padrão de calibração. O intervalo da curva padrão de calibração para o Se variou de 0,5 a 20 µg L⁻¹.

5.4.3. Dosagem do Hg

A dosagem do teor de Hg foi realizada de forma semelhante ao reportado para As, Sb e Se, suprimindo-se a etapa de pré-redução. No entanto, os extratos foram previamente dopados com solução padrão de ouro (Au), suficiente para atingir $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ na solução de leitura. Uma solução de HCl 5% contendo 2% (m/v) de SnCl_2 foi utilizada como agente redutor do mercúrio, geradora do vapor frio. As condições operacionais para determinação do Hg por HG-ICP/OES encontram-se no Quadro 3.

Durante as séries de análises foi utilizada uma solução de limpeza contendo 10% HCl e $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Au. A utilização do Au nos extratos e, principalmente, na solução de limpeza teve como objetivo formar uma amalgama Hg-Au, com vistas a homogeneizar a distribuição do Hg no extrato de leitura e também evitar problemas de efeito de memória (contaminação entre amostras), muito comum durante a dosagem de Hg por HG-ICP/OES. Uma solução padrão de $5,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg foi utilizada como controle para corrigir possíveis instabilidades do aparelho. Essa solução foi analisada periodicamente a cada 10 amostras, admitindo-se variação entre leituras de 80 a 120%. Quando a concentração lida não se apresentava dentro desse intervalo o método era recalibrado por meio da leitura da curva padrão de calibração. O intervalo da curva padrão de calibração para o Hg variou de 0,5 a $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

Quadro 3. Condição operacional do gerador de hidretos acoplado ao ICP/OES para dosagem de Hg.

INSTRUMENTO	CONDIÇÃO OPERACIONAL
ICP-OES	
Potência de radiofrequência (W)	1400
Plano de visão	Axial
Plasma (L min. ⁻¹)	15
Nebulizador (L min. ⁻¹)	0,8
Gás auxiliar (L min. ⁻¹)	0,7
Tempo de integração (s)	2-5
Retardamento da leitura (s)	40
Vasão da bomba peristáltica (mL min. ⁻¹)	1,5
Repetição das leituras	3
Comprimento de onda utilizado (nm)	253,652
Gerador de hidretos	
Redutor	5% HCl contendo 2% de SnCl ₂
Fluxo do redutor (mL min. ⁻¹)	1,5
Fluxo da amostra (mL min. ⁻¹)	2,5
Auto-amostrador	
Vasão da bomba peristáltica (mL min. ⁻¹)	1,5
Tempo limpeza entre amostras(s)	60

6. Resultados dos testes de validação

6.1. Recuperação da prata

A concentração de Ag foi semelhante, para o mesmo método EPA-3051a, para os dois diferentes ensaios avaliados (Quadro 4). Os valores recuperados, ligeiramente superiores para os solos, refletem a presença do elemento nesses solos que se somaram à quantidade inicial adicionada (20 µg L⁻¹). Estes resultados sugerem que a presença de HCl no extrator não limita a recuperação de Ag dos solos.

Conforme reportado na literatura, na presença de ácido clorídrico em excesso, a Ag forma cloro-complexos, tais como AgCl, AgCl₂⁻ e AgCl₃²⁻, com as respectivas constantes de estabilidade, pK₁ = 3,36; pK₂ = 5,20 e; pK₃ = 6,0. Isto indica predomínio dos complexos di e triclora, mais solúveis, em meio ácido com alta atividade do íon cloreto. Por outro lado, uma relação mais estreita Ag:Cl resultará numa solução saturada. Assim, a julgar pelo aumento da concentração do íon cloreto quando se utiliza o método USEPA SW-3051a, cerca de 720 mmol L⁻¹ na solução final, e pelos baixos teores naturais de Ag dos solos pode-se inferir que o HCl deverá aumentar a solubilidade da Ag

melhorando sua recuperação. Além disso, o HCl atua positivamente na estabilização de alguns elementos, tais como Al, Ba, Cr, Fe, Sb e V durante a detecção analítica.

Diante dos resultados, verificou-se que o uso do método USEPA SW 3051a não seria fator limitante para a determinação dos teores de prata nos solos do estado de Minas Gerais.

Quadro 4. Concentração recuperada de Ag em duas diferentes matrizes. Valores médios \pm desvio padrão (n=3)

Método	Matriz	
	Solução ácida -----□□g L ⁻¹ -----	Solo -----□□g kg ⁻¹ ----- --
SW 3051 (HNO ₃)	19,78 \pm 0,82	21,46 \pm 1,82
SW 3051a (HNO ₃ + HCl)	20,53 \pm 1,22	22,07 \pm 0,92

6.2. Validação da Amostragem para a Determinação de Hg

Os teores recuperados de Hg não apresentaram diferença quanto ao método de amostragem e preservação das amostras, como evidenciado pela média dos teores obtidos e seus respectivos erros analíticos. Os resultados indicam que não houve perdas por volatilização para as amostras coletadas, transportadas e armazenadas à temperatura ambiente. A recuperação de Hg nas amostras certificadas mostrou-se satisfatória, em especial para a amostra de referência SRM-NIST 2709 que apresenta teores certificados para o método adotado.

6.3. Desempenho do método analítico

A avaliação da exatidão, precisão e limite de quantificação foram as principais ferramentas utilizadas para validação do método de análise, considerando-se que foi utilizado um método oficial.

6.4. Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ)

Para que o método seja considerado satisfatório é necessário que a técnica analítica apresente sensibilidade adequada para quantificação daqueles elementos presentes em menores quantidades, como é o caso dos

elementos traço. Nesse sentido, os limites de detecção e quantificação obtidos foram adequados, indicando boa sensibilidade do método utilizado para a dosagem dos elementos de interesse.

Para a estimativa dos valores de LD e LQ foi utilizado, inicialmente, o método 2 dos guias de Absorção Atômica e Emissão Atômica (Plasma), bem como o método recomendado pelos documentos orientativos DOQ-CGCRE-008 - Revisão 03 – FEV/2010 (INMETRO, 2010) e CITAC/EURACHEM (2002). Para a confirmação dos limites de quantificação foram preparadas soluções contendo os analitos na concentração do LQ calculado, efetuadas as análises e a recuperação calculada em cada caso.

6.5. Estimativa da Exatidão

A exatidão do método analítico foi obtida a partir da solubilização ácida das amostras padrão de referência – SRM 2709a, 2710a e 2711a - de forma semelhante às amostras. Para comparação dos dados obtidos, calcularam-se os intervalos de confiança dos resultados para cada analito, o erro relativo em relação à média do SRM e a porcentagem de recuperação em relação ao valor médio do padrão.

A análise dos resultados mostrou que, para a grande maioria dos analitos avaliados, os valores relatados para os padrões estão dentro do intervalo de confiança calculado e apresentaram valores de recuperação aceitáveis em relação à média do valor certificado.

6.6. Precisão

A precisão foi calculada pelo coeficiente de variação de sete replicatas dos padrões. A análise dos dados mostram que, com exceção do Cd e As, os demais elementos apresentaram coeficiente de variação (CV) inferior a 10%. O documento AOAC/FAO/IAEA/IUPAC “Principles and Practices of Method Validation” (FAJGELJ A. & AMBRUS A., 2000), recomenda um CV máximo de 15% para a faixa utilizada.

6.7. Cálculo da incerteza associada à medição

A incerteza associada à medição foi calculada com base no guia CITAC/EURACHEM (2002). Inicialmente foram identificadas as fontes de contribuição para a incerteza total: preparo da curva de calibração; incerteza da

balança utilizada, balões e pipetas utilizados; temperatura do laboratório; coeficiente de diluição do vidro e as medições da amostras e dos padrões. A seguir será apresentada a estimativa da incerteza relativa de cada uma das fontes identificadas, da incerteza combinada e da expandida.

A incerteza combinada foi calculada pela raiz quadrada do somatório das variâncias relativas e a incerteza expandida foi obtida multiplicando-se a combinada por um fator de cobertura ($K=2$).

6.8. Conclusão dos Testes de Validação do Método

Os testes de verificação do desempenho do método EPA 3051a foram considerados satisfatórios, segundo o que recomenda os documentos de organismos oficiais, sendo esse adequado para a determinação dos metais nos solos da região do Estado de Minas Gerais nas condições operacionais testadas.

7. Resumo do Método a ser adotado

É baseado no método MICROWAVE ASSISTED ACID DIGESTION OF SEDIMENTS, SLUDGES, SOILS, AND OILS (USEPA, 2007).

Pesar 0,5000g de amostra de solo com granulometria inferior a 200 mesh (0,074 mm) e efetuar a lixiviação com adição de 9,0 mL de ácido nítrico e 3,0 mL de ácido clorídrico, ambos concentrados. Digerir as amostras em frascos de Teflon[®] específicos de digestor com aquecimento por micro-ondas nas seguintes condições operacionais: potência = (650 W – 1000 W); pressão aproximada 130 psi (\cong 9 atm); temperatura aproximada de 175°C, tempo de rampa (Ramp) = 5 min. e 30 seg.; tempo sobre pressão (hold) = 4 min. e 30 seg.

Avolumar para 50 mL utilizando balão plástico, preferencialmente PFA, previamente limpos por meio da imersão dos mesmos em ácido nítrico ou água régia, ambos a 20% v/v + 1% detergente P.A., por no mínimo 12 horas e lavagem rigorosa com água deionizada ou osmose reversa.

A água utilizada para avolumar a solução digerida deve ser tipo I, padrão ultra puro ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

Para As e Se realizar a pré-redução antes das leituras, sendo que para o As deve-se utilizar o KI/ácido ascórbico e para o Se solução de HCl sob

aquecimento, conforme descrito nesse documento. Para o mercúrio não é necessária à pré-redução.

Para as leituras do As e Se, utilizar HG-ICP-OES, HG-AAS ou outra técnica que apresente sensibilidade semelhante.

Para o mercúrio utilizar a técnica de vapor frio.

Para os demais elementos utilizar ICP OES, FAAS ou outra técnica com sensibilidade semelhante.

8 Referências Bibliográficas

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2001. ABNT ISO/IEC 17025:2001. Requisitos gerais para a competência de laboratório de ensaios de calibração. ABNT, Brasil.

CITAC/EURACHEM (2002) - Guide To Quality In Analytical Chemistry, 57 p. Disponível em: http://www.citac.cc/CITAC_EURACHEM_GUIDE.pdf

FAJGELJ A., AMBRUS A. Principles and Practices of Method Validation - AOAC/FAO/IAEA/IUPAC - The Royal Society of Chemistry, Cambridge. 2000. 313 p.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente - Resolução No. 420, 2009. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>. Acesso em 05 de fevereiro de 2013

INMETRO, Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos – Documento de Caráter Orientativo. DOQ-CGCRE-008 Revisão 03, INMETRO. 2010. 20 p.

United States Environmental Protection Agency – USEPA **Microwave assisted acid digestion of sediments sludge, soils, and oils**. EPA SW 846 3051a. 30p, (2007). available in: <http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3051a.pdf>