



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

OHANA NADINE DE ALMEIDA

**Desenvolvimento de metodologias analíticas combinadas para
determinação de metais em solo por Espectrometria
Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva**

ILHÉUS – BAHIA

2017

OHANA NADINE DE ALMEIDA

**Desenvolvimento de metodologias analíticas combinadas para
determinação de metais em solo por Espectrometria de
Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva**

Dissertação apresentada na Universidade Estadual de Santa Cruz pelo Programa de Pós-Graduação em Química, como requisito para obtenção do grau de mestre em Química, área de concentração Química Analítica Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Heriberto Martinez Luzardo

Co-Orientador: Prof. Dr. Fábio Alan Carqueja Amorim

ILHÉUS - BAHIA

2017

A447 Almeida, Ohana Nadine de.
Desenvolvimento de metodologias analíticas
com-
binadas para determinação de metais em solo por
espectrometria fluorescência de Raios-X de
energia
dispersiva / Ohana Nadine de Almeida. – Ilhéus,
BA:
UESC, 2017.
94 f. : il.

Orientador: Francisco Heriberto Martinez Luzardo.
Co-orientador: Fábio Alan Carqueja Amorim.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual
de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em
Química.
Inclui referências e apêndice.

1. Espectrometria de raio-X. 2. Pré-concentração.
3. Fluorescência de raio-X. 4. Metais – Análise. 5.
Solo- Metais pesados. I. Título.

CDD 543.08586

OHANA NADINE DE ALMEIDA

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS
COMBINADAS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM SOLO
POR ESPECTROMETRIA FLOURESCÊNCIA DE RAIOS-X DE
ENERGIA DISPERSIVA

Ilhéus-BA, Ilhéus, 03 de março de 2017.

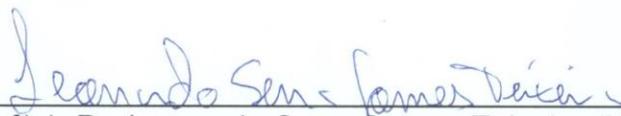
COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof(a). Dr. Francisco Heriberto Matinez Luzardo
Doutor em Ciências Técnicas (CNPCC)
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC
Orientador(a)



Prof(a). Dr. Erik Galvão Paranhos da Silva (UESC)
Doutor em Química - UFBA
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC



Prof(a). Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira (UFBA)
Doutor em Química - UFBA
Universidade Federal da Bahia - UFBA

*“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica
nossa ignorância” (John F. Kennedy)*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois foi nEle que busquei forças para continuar a cada dia de sofrimento, dores, choros e desesperos.

Agradeço tia Zelza pelo apoio, aos meus pais Antonio e Rosemeire pelo total apoio em todas as horas de necessidade, pelo amor, carinho, educação, respeito e investimento, amo vocês!

Obrigada Aparecido por todo o inestimável amor dedicado, o incomensurável companheirismo, o imenso apoio, os conselhos, a ajuda, te amo!

Pela eterna paciência, dedicação, apoio, ensinamentos, ajuda, conselhos, confiança, carinho, puxões de orelha, afeto infinito, agradeço ao professor Francisco Luzardo, meu eterno orientador, que em toda a minha vida lembrarei com o maior carinho sem me preocupar e sim me ocupando!

Ao professor Fábio Alan, agradeço pela paciência por me ver chorar várias vezes, por repetir os ensinamentos sempre que necessário até eu compreender, obrigada pela dedicação.

Aos meus colegas do PPGQUIM e a galera do forró, agradeço pelo companheirismo, em especial Ivero por sempre me ajudar, a Rândilla que estava e está comigo a todo momento com a maior boa vontade, pelos vários dias estudando juntas, aprendendo, discutindo e tirando as dúvidas uma da outra. Por me abrigar no momento mais crucial desta fase. Obrigada pela amizade!

Agradeço aos meus professores da UESB, em especial Djalma e Valfredo pela amizade, conselhos, ajudas e ensinamentos, pelas dúvidas tiradas mesmo sem compromisso, apenas por boa vontade de ajudar.

Agradeço a família CTR, que estavam comigo a todo momento, mesmo em momentos de desespero me fizeram rir, distrair, sentirei saudades de vocês, Iveja sempre me ajudando; Livia trocando informações, amostras, lamentações; Pit; Carol por estar sempre solícita quando precisei, Keila por toda a disponibilidade e amizade, Laís, Léo pelo apoio, Filipe pela amizade e às danças, Maria por toda a ajuda, pelas conversas, pelos chocolates, professora Agnes e professor Anderson pelo incalculável carinho e gentileza, professor Flávio pela companhia na hora do almoço e aos demais muito obrigada.

Obrigada Gerson e Pablo da GERLAB e Luciano do laboratório de águas.

Agradeço a FAPESB pela bolsa concedida e professores do PPGQUIM.

*Despencados de voos cansativos
Complicados e pensativos
Machucados após tantos crivos
Blindados com nossos motivos
Amuados, reflexivos
E dá-lhe antidepressivos
Acanhados entre discos e livros
Inofensivos*

*Será que o sol sai pra um voo melhor
Eu vou esperar, talvez na primavera
O céu clareia e vem calor vê só
O que sobrou de nós e o que já era
Em colapso o planeta gira, tanta
mentira
Aumenta a ira de quem sofre mudo
A página vira, o são delira, então a
gente pira
E no meio disso tudo
Tamo tipo*

*Passarinhos
Soltos a voar dispostos
A achar um ninho
Nem que seja no peito um do outro
Passarinhos
Soltos a voar dispostos
A achar um ninho
Nem que seja no peito um do outro*

*Laiá, laiá, laiá, laiá
Laiá, laiá, laiá
Laiá, laiá, laiá, laiá
Laiá, laiá*

*A Babilônia é cinza e neon, eu sei
Meu melhor amigo tem sido o som,
ok
Tanto carma lembra Armagedon, orei
Busco vida nova tipo ultrassom, achei
Cidades são aldeias mortas, desafio
nonsense
Competição em vão, que ninguém
vence*

*Pense num formigueiro, vai mal
Quando pessoas viram coisas,
cabeças viram degraus*

*No pé que as coisas vão, jáo
Doidera, daqui a pouco, resta
madeira nem pro caixão
Era neblina, hoje é poluição
Asfalto quente queima os pés no
chão
Carros em profusão, confusão
Água em escassez, bem na nossa
vez
Assim não resta nem as barata
Injustos fazem leis e o que resta pro
ceis?
Escolher qual veneno te mata
Pois somos tipo*

*Passarinhos
Soltos a voar dispostos
A achar um ninho
Nem que seja no peito um do outro
Passarinhos
Soltos a voar dispostos
A achar um ninho
Nem que seja no peito um do outro

(Passarinhos – Emicida)*

RESUMO

A contaminação de matrizes ambientais com metais tóxicos constitui um problema, que torna cada dia mais importante a determinação destes devido a seu impacto negativo a seres vivos. Por essa razão, a preocupação pelo desenvolvimento de novas metodologias analíticas voltadas para esse fim é um desafio constante para a ciência. Este trabalho objetivou desenvolver metodologias para a quantificação de chumbo, cobre, cobalto, cromo e níquel por Espectrometria de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva em solos. Foram elaborados procedimentos de preparação das amostras e estabelecidas as curvas de calibração para medidas diretas nas amostras de solos. Para a análise de concentrações traço, baixo os limites de detecção da medição direta, fez-se necessária uma etapa de separação e pré-concentração por meio da microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME). Esta microextração baseou-se na injeção de uma mistura, de tricloroetileno e metanol, na amostra, em que os analitos foram complexados com 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas. Recolheu-se 40 μL da fração sedimentada ao fundo do recipiente. Depositou-se essa fase rica em um suporte sólido para posterior quantificação desses metais no Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva. As metodologias foram validadas de acordo com os critérios da IUPAC e da INMETRO. A metodologia para análise direta teve sensibilidade de 0,622; 0,0438; 0,126; 0,0852 e 0,278 cps/ppm para Co, Cr, Cu, Ni e Pb respectivamente, e limites de detecção de 22,268; 41,646; 23,057; 13,061 e 3,193 mg kg^{-1} . Para a metodologia de pré-concentração a sensibilidade foi de 24,5; 27,0; 62,5; 44,7 e 33,9 para Co, Cr, Cu, Ni e Pb, respectivamente, e limites de detecção de 0,245; 0,206; 0,069; 0,476 e 0,122 $\mu\text{g kg}^{-1}$, com fatores de enriquecimento de 58, 158, 90, 69 e 78. A partir destes resultados foram desenvolvidas metodologias com confiabilidade e validade para quantificação direta e pré-concentração de níquel, cromo, cobre, cobalto e chumbo em solo por Espectrometria de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva. As metodologias foram aplicadas em amostras de solo de estudo de bioacumulação, de áreas contaminadas e de lixão. As concentrações dos metais nas amostras estavam abaixo do limite máximo permitido pela resolução 420/2009 do CONAMA exceto a amostra de área contaminada.

Palavras chave: Análise por EDXRF, pré-concentração, Microextração Líquido-Líquido Dispersiva, matrizes sólidas.

ABSTRACT

Contamination of environmental matrices with toxic metals is a problem, which makes it increasingly important to determine these due to their negative impact on living beings. For this reason, the concern for the development of new analytical methodologies for this purpose is a constant challenge for science. This work aimed to develop methodologies for the quantification of lead, copper, cobalt, chromium and nickel by Dispersive Energy X-Ray Fluorescence Spectrometry in soils. Sampling procedures were developed and the calibration curves established for direct measurements in the soil samples. For the trace concentrations analysis, under the detection limits of the direct measurement, a separation and preconcentration step was necessary by liquid-liquid dispersive microextraction (DLLME). This microextraction was based on the injection of a mixture of trichloroethylene and methanol into the sample, where the analytes were complexed with 2- (2-thiazolylazo) -p-cresol. Subsequently, the samples were centrifuged. 40 μL of the sedimented fraction was collected at the bottom of the vessel. This rich phase was deposited on a solid support for further quantification of these metals in the Dispersive Energy X-Ray Fluorescence Spectrometer. The methodologies were validated according to IUPAC and INMETRO criteria. The methodology for direct analysis had a sensitivity of 0.622; 0.0438; 0.126; 0.0852 and 0.278 cps / ppm for Co, Cr, Cu, Ni and Pb respectively, and detection limits of 22.268; 41.646; 23.057; 13.061 and 3.193 mg kg^{-1} . For the preconcentration methodology, the sensitivity was 24.5; 27.0; 62.5; 44.7 and 33.9 for Co, Cr, Cu, Ni and Pb, respectively, and detection limits of 0.245; 0.206; 0.069; 0.476 and 0.122 $\mu\text{g kg}^{-1}$, with enrichment factors of 58, 158, 90, 69 and 78. From these results, methodologies were developed with reliability and validity for direct quantification and pre-concentration of nickel, Copper, cobalt and lead in soil by Dispersive Energy X-Ray Fluorescence Spectrometry. The methodologies were applied in soil samples of bioavailability, contaminated areas and landfill study. The samples were within the maximum limit allowed by CONAMA resolution 420 except the contaminated area sample.

Keywords: Analysis by XRF, preconcentration, Dispersive Liquid-Liquid microextraction, solid matrices.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURA

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica, do inglês: <i>Atomic Absorption Spectrometry</i> .
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CV	Coefficiente de variação
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês: <i>Dispersive liquid-liquid microextraction</i>
F AAS	Espectrometria de Absorção atômica com chama, do inglês: <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> .
FE	Fator de enriquecimento
EDXRF	Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva, do inglês: <i>Energy Dispersive x-ray fluorescence</i>
GF AAS	Espectrometria de Absorção atômica com Forno de Grafite, do inglês: <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
HG AAS	Espectrometria de Absorção atômica com geração de hidreto, do inglês: <i>Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>
ICP OES	Espectrometria óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês: <i>Inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i>
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês: <i>Inductively coupled plasma mass spectrometry</i>
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês: <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
WHO	Organização Mundial de Saúde, do inglês: <i>World Health Organization</i>
RM	Material de Referência, do inglês: <i>Reference Material</i>
TAC	2-(2- tiazolilazo)-p-cresol

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Diagrama de bloco do processo padrão de espectrometria de fluorescência de raios-X de Energia Dispersiva	25
Figura 2 Representação esquemática do mecanismo de fluorescência de raios-x de um átomo de ferro que conduzem à emissão de raios-X em Fe K α	26
Figura 3 Esquema do Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X, HV: energia, MCA: analisador multicanal.....	27
Figura 4 Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X MiniPal PANalytical 4	35
Figura 5 Recipiente com película de polipropileno, altura de 2,85 cm e diâmetros de 2,78 cm (interno) e 3,44 cm (externo) apropriado para análise por EDXRF, o recipiente com solo e o espectrômetro.....	36
Figura 6 Espectro qualitativo de Fluorescência de raios-x do material de referência RM 8704 - NIST, analisado com filtro de prata <Ni-Ag> (amarela), 30 kV, 300 μ A, tempo de 60 segundos; com filtro de alumínio fino <Cl-V> (azul), 12 kV, 550 μ A e na abertura <Na-S> (roxa) 4,0 kV, 2 μ A.....	43
Figura 7 Espectro qualitativo de Fluorescência de Raios-X do material de referência RM 8704 – NIST analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos.....	44
Figura 8 Espectro de Fluorescência de raios-X do material de referência RM 8704 – NIST analisado com filtro <Cl-V> de alumínio fino, 12 kV, 550 uA.....	45
Figura 9 Influencia de diferentes quantidades de massa do material de referência RM 8704 – NIST na intensidade da medição, analisado com filtro <Ni-Ag> de prata, 30 kV, 300 μ A, tempo de 60 s para o elemento chumbo e n=3.	46
Figura 10 Influência do tamanho de partícula na intensidade de fluorescência, n=3	47
Figura 11 Curva de Calibração de Pb tamanho de partícula de solo de 100 mesh, onde onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação.	48
Figura 12 Curva de Calibração de Pb tamanho de partícula de solo de 170 mesh, onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação.	49

Figura 13 Espectro qualitativo do solo controle com elementos do material de referência marcados nos três filtros	50
Figura 14 Espectro qualitativo do solo controle, filtro <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos.....	51
Figura 15 Curvas de calibração multielementar de Co, Cr, Cu, Ni e Pb, onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação.....	53
Figura 16 Estudo da interferência Interelementos Cr-Cu-Ni, onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação	54
Figura 17 Estudo da interferência Interelementos Cr-Co-Ni, onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação	55
Figura 18 Curvas de calibração de solo de Cr, Cu, Ni e Pb e curva de calibração de Co, onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação	57
Figura 19 Estudo inicial da intensidade de fluorescência e viabilidade do estudo com os analitos	60
Figura 20 Avaliação do suporte sólido, n=3.	61
Figura 21 Variação da intensidade do sinal com o aumento do solvente extrator para Cr	63
Figura 22 Variação da intensidade do sinal com o aumento do solvente extrator para Co	63
Figura 23 Variação da intensidade do sinal com o aumento do solvente extrator para Ni.....	63
Figura 24 Variação da intensidade do sinal com o aumento do solvente extrator para Cu	63
Figura 25 Variação da intensidade do sinal com o aumento do solvente extrator para Pb.....	64

Figura 26 Curvas de calibração da metodologia de pré-concentração, onde D é o intercepto, E a inclinação, K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação	67
Figura 27 Fluxograma da metodologia combinada para quantificação de Cr, Co, Cu, Ni e Pb em solo	75
Figura 28 Espectro qualitativo da amostra AR2-0-5 analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos	77
Figura 29 Espectro qualitativo da amostra L180Pb analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos	78
Figura 30 Espectro qualitativo da amostra CTR-AA-001 analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos	79
Figura 31 Espectro qualitativo da amostra L105Ni analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos	80
Figura 32 Espectro qualitativo da amostra CTR-AA-002 analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos	81
Figura 33 Curvas de calibração sem pré-concentração para cálculo do fator de enriquecimento, onde D é o intercepto, E a inclinação, K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação.	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Planejamento fatorial 2^3 com as variáveis e os valores dos níveis pesquisados.	40
Tabela 2 Avaliação da influência do tempo de incidência da radiação no material de referência para a linha $L\alpha$ do chumbo.	52
Tabela 3 Características analíticas da análise direta	58
Tabela 4 Valores do teste t de "student" para comparar médias das intensidades do suporte com e sem solvente extrator, seguido o valor de t crítico, no qual t tabelado menor do que t crítico, não há diferença significativa.	59
Tabela 5 Intensidade de fluorescência do planejamento fatorial seguido do seu desvio padrão para os respectivos elementos com 3 graus de liberdade nas medições.....	61
Tabela 6 Resumo das significâncias das variáveis	62
Tabela 7 Modelos de regressão não linear dos elementos e suas correlações	64
Tabela 8 Volume referente à máxima intensidade de fluorescência para cada elemento em questão.....	65
Tabela 9 Limites máximo de íons interferentes na determinação de Cr, Co, Ni, Cu e Pb na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$	68
Tabela 10 Condições do procedimento de microextração para os experimentos .	69
Tabela 11 Valores de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) obtidos nas análises para avaliação da precisão.....	69
Tabela 12: Resultados da validação comparando o valor experimental como valor obtido do modelo com 95% de confiabilidade.	70
Tabela 13 Características analíticas da metodologia de pré-concentração	71
Tabela 14 Comparação de trabalhos com a combinação das técnicas de fluorescência de raios-x e a metodologia de DLLME	73
Tabela 15 Tabela com características analíticas das metodologias de análise direta e pré-concentração.....	76
Tabela 16 Resultados das aplicações da metodologia de análise direta juntamente a faixa linear e os limites de detecção e quantificação das curvas de calibração .	82
Tabela 17 Teste de qui-quadrado para amostras de solo	83

Tabela 18 Resultados das amostras em utilizando a metodologia de pré-concentração juntamente a faixa linear e os limites de detecção e quantificação das curvas	84
Tabela 19: Análise qualitativa do material de referência RM 8704 seguida com os valores certificados.....	93
Tabela 20 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan	93
Tabela 21 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan para cobalto.....	95
Tabela 22 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan para cromo	95
Tabela 23 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan para cobre	95
Tabela 24 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan para níquel.....	95
Tabela 25 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan para chumbo.....	95

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
1.0 INTRODUÇÃO	19
1.1 Problema Científico	20
1.2 Hipótese	20
1.3 Objetivo Geral	21
1.3.1 Objetivos Específicos	21
2.0 REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 Metais tóxicos	22
2.2 Técnicas analíticas mais empregadas para quantificação de metais.....	23
2.3 Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva	24
2.4 Pré-concentração	30
2.4.1 Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME).....	31
2.5 Planejamento fatorial e otimização	32
3.0 METODOLOGIA.....	34
3.1 Preparação das amostras de solo.....	34
3.1.1 Tamanho de partícula.....	35
3.2 Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva	35
3.3 Determinação da massa de amostra para as análises.....	35
3.4 Determinação do tempo de incidência da radiação	36
3.5 Análise Qualitativa.....	36
3.6 Análise Quantitativa	37
3.6.1 Curvas de calibração	37
3.6.2 Limite de detecção e quantificação.....	37
3.7 Microextração Líquido-Líquido Dispersiva	37
3.7.1 Seleção do suporte sólido	38

3.7.2	Destruição da matéria orgânica	39
3.7.3	Otimização da metodologia de pré-concentração	39
3.7.4	Avaliação de interferentes	40
3.7.5	Validação	40
3.7.6	Limite de detecção e quantificação para a pré-concentração	41
4.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1	Análise direta de solos por EDXRF	42
4.1.1	Determinação da massa de amostra	42
4.1.2	Tamanho de partícula	46
4.1.3	Tempo de incidência da radiação	52
4.1.4	Análise Quantitativa em amostras de solo em pó	52
4.2	Resultados da otimização do procedimento de pré-concentração para quantificação de metais por EDXRF	59
4.2.1	Intensidade de fluorescência (cps)	59
4.2.2	Seleção do suporte sólido	60
4.2.3	Planejamento Fatorial 2 ³	61
4.2.4	Otimização do solvente extrator	62
4.2.5	Estudo de interferentes	68
4.2.6	Validação	69
4.2.7	Características analíticas	70
5.0	METODOLOGIA INTEGRADA PARA DETERMINAÇÃO DE SOLO POR EDXRF	74
6.0	APLICAÇÃO DAS METODOLOGIAS	77
6.1	Análise qualitativa	77
6.2	Análise quantitativa	82
6.2.1	Análise direta	82
6.2.2	Análise aplicada a pré-concentração	84
7.0	CONCLUSÕES	85

8.0	REFERÊNCIAS	86
9.0	APÊNDICE	93

1.0 INTRODUÇÃO

Muitos metais são essenciais no organismo humano, porém em altas concentrações passam a ser tóxicos ao mesmo. Existem ainda, metais que não tem função para o ser humano, como o chumbo. A grande causa de intoxicação por metais tóxicos, parte da ingestão de água e alimentos contaminados. Com o desenvolvimento industrial, aumentou o número de automóveis e descartes indiscriminados de lixos eletrônicos, entre outros, e o nível de contaminação de metais tóxicos em plantas, alimentos, solos e efluentes. Como reflexo dos impactos causados ao meio ambiente, numerosas pesquisas vêm sendo realizadas para quantificação dos contaminantes nas diversas matrizes.

Muitas pesquisas são feitas sobre metais tóxicos no meio ambiente usando diferentes técnicas analíticas, como Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FA AS) (DALMAN; DEMIRAK; BALCI, 2006), Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS) (SARDANS; MONTES; PENUELAS, 2010) e Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) (HASSAN; YEGANEH; SOHEILA, 2012; CUI; HE; HU, 2011). As técnicas de Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) são metodologias de análise rápida, resulta em boa precisão das análises, fácil calibração, porém são técnicas monoelementares, analisam apenas amostras líquidas, sendo necessária uma etapa de digestão e o FA AS não apresenta boa sensibilidade para quantificação de metaloides (MELQUIADES, 2007; MORAES, 2003) e possui faixa linear restrita (ZAMBELLO, 2001).

O ICP OES é uma técnica multielementar, possível de aplicação na determinação de metais em diversas matrizes, possui ampla faixa linear, porém também é necessária uma etapa de digestão de amostras, apresenta espectros complexos, interferências interelementares e é uma técnica de alto custo (MORAES, 2003; ZAMBELLO, 2001).

Por outro lado, a Espectrometria de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva é uma técnica com inúmeras vantagens como a análise multielementar sem a destruição da matriz, sendo desnecessário um procedimento de digestão de amostra. Tem sido muito aplicada em determinações de elementos metálicos em solos e outras matrizes em elevadas concentrações. Porém, desvantagens

como o alto limite de quantificação e interferência por efeito de matriz dificultam a análise de elementos traço. Por isso, esta técnica ainda não foi muito aplicada em quantificação de analitos em baixa concentração. Devido isto, é importante o desenvolvimento de metodologias que permita acrescentar à utilização desta técnica no estudo de contaminações de metais tóxicos. Uma maneira de eliminar essas desvantagens é a utilização de uma metodologia de pré-concentração de maneira combinada, quantificando os metais em solo por análise direta por EDXRF e aplicar a pré-concentração para quantificar os analitos que ficaram abaixo dos limites de quantificação da primeira metodologia.

Ainda existe pouca bibliografia com a técnica analítica e até a presente revisão de literatura, não foi encontrada uma metodologia para análise de metais tóxicos em solos de forma combinada utilizando a Espectrometria de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva e a microextração líquido-líquido dispersiva.

A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) é uma técnica de pré-concentração miniaturizada, que despense de pouca quantidade de solventes e amostras, é de simples e rápida operação, de baixo custo, e elevadas recuperações e fatores de enriquecimento (LI et. al., 2015).

1.1 Problema Científico

O alcance de limites de quantificação adequadas as normativas de controle da qualidade ambiental, nas análises de concentrações de metais tóxicos em matrizes de solo usando a Espectrometria de Fluorescência de Raios X de Energia Dispersiva, com confiabilidade e validade.

1.2 Hipótese

A partir das considerações anteriores foi estabelecida a hipótese de que é possível, diante de uma adequada preparação de amostras de solo em pó, determinar a concentração de metais aplicando curvas de calibração específicas com confiabilidade acima de 95% e validade utilizando a EDXRF, combinada com a metodologia de digestão e microextração líquido-líquido dispersiva, quando as concentrações fiquem sob o limite de quantificação da primeira.

1.3 Objetivo Geral

Desenvolver metodologias combinados de análise direta e pré-concentração para análise de metais em matrizes de solo por Espectrometria de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva com confiabilidade e validade.

1.3.1 Objetivos Específicos

- a. Desenvolver uma metodologia para análise de Co, Cr, Cu, Ni e Pb em solos, em pó, por Espectrometria de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva.
- b. Desenvolver uma metodologia de preconcentração para quantificação de metais em amostras de solos digeridas para análise por EDXRF usando a microextração líquido-líquido dispersiva.
- c. Validar as metodologias analíticas desenvolvidas.
- d. Aplicar as metodologias analíticas desenvolvidas em outras amostras de solo.

2.0 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Metais tóxicos

O chumbo é um elemento tóxico encontrado em níveis baixos na crosta terrestre. Em quantidades elevadas, é extremamente tóxico à saúde humana. A contaminação por chumbo tem ação carcinogênica e acumulativa, geralmente, nos ossos, rins, fígado e cérebro, e atinge o sistema gastrointestinal, cardiovascular, renal, neurológico e hematológico. Este metal é encontrado em pintura, canalizações, soldas, baterias, eletroeletrônicos, munições entre outros. A Organização Mundial de Saúde (WHO) estima que o ser humano possa ingerir $25 \mu\text{g kg}^{-1}$ por semana deste metal (WHO, 2010).

O níquel é um metal muito utilizado para o desenvolvimento de ligas metálicas caracterizadas pela sua dureza, força e resistência a calor e corrosão. Muito utilizado na produção de aço inoxidável, ligas não-ferrosas e superligas. Os sais de níquel são utilizados em produtos eletrônicos, em pigmentos, eletrodomésticos e podem ser incorporados em suplementos alimentares. Em áreas urbanas, há uma concentração a cerca de 5 a 35 ng m^{-3} de níquel no ar. Este metal é muito encontrado em sementes, nozes, cacau, farelo de trigo, grãos em geral com a concentração entre 1 e 6 mg kg^{-1} . O ser humano ingere em torno de 10 microgramas de níquel por dia em alimentos e é facilmente excretado pelas fezes e urina. A exposição do ser humano a grande quantidade deste metal leva a lesões renais, no fígado e causam imunopressão a atividade de células, hemorragia, náuseas, vômito, diarreia, dor de cabeça, hipersensibilidade e até morte (WHO, 2005).

A crosta terrestre contém 0,0025% de cobalto, este, o 33º elemento mais abundante, encontrado normalmente na forma de sulfatos, arsenatos, sulfoarsenatos, hidratos ou óxidos (KIM et.al., 2006). Este elemento é geralmente encontrado em concentração traço em minerais de cobre, chumbo, ferro, prata e principalmente de níquel. Vinha sendo utilizado em porcelana e vidros chineses, pérsicos, como pigmento azul em cerâmicas egípcias. Hoje, seu principal uso na indústria de tinta é fornecer a cor branca (MEDEIROS, 2013). A maior fonte de cobalto para o ser humano é na alimentação com vegetais e cereais frescos,

vitamina B12 contém este metal essencial. A inalação excessiva deste elemento pode causar problemas gastrointestinais, ingestão exacerbada causa cardiomiopatia, náusea, vômito, porém, este ajuda no crescimento de plantas como tomate, e é essencial para fixação de nitrogênio por bactérias (KIM et.al., 2006).

Altas doses de cobre para o ser humano causa sangramento gastrointestinal, toxicidade hepatocelular, insuficiência renal aguda, entre outros (FAWELL, 2004). O cobre é constituinte de várias enzimas, ajuda no transporte de elétrons no momento da respiração aeróbia. A falta deste elemento proporciona a imperfeição na formação de colágeno. Deficiência deste elemento causa anemia, diarreia, falhas reprodutivas, perda na pigmentação da pele, osteoporose entre outros sintomas (AZEVEDO; GONZÁLEZ, 2005).

Em rochas sedimentares é comum a presença de metais, como Cu, Cr, Ni, Pb e Co em concentrações de até 35; 35; 2 a 9; 9 e 0,3 mg kg⁻¹, respectivamente (CETESB, 1999). Pela resolução de número 420 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), em áreas residenciais, por exemplo, é permitido para chumbo, cobalto, cobre, cromo e níquel concentrações até 300, 65, 400 300 e 100 mg kg⁻¹, respectivamente, desses metais no solo (CONAMA, 2009).

2.2 Técnicas analíticas mais empregadas para quantificação de metais

A maior utilização no uso de técnicas analíticas instrumentais depende de vários fatores, como: frequência de amostragens, número e concentração dos analitos, interferências, custos etc. Os equipamentos comumente utilizados são: espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), com chama (F AAS), com geração de hidreto (HG AAS), o espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e o espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

A espectrometria de absorção atômica, comparado com o ICP OES e ICP-MS, possuem vantagens como menor custo de equipamento e operacional, facilidade de manuseio, uma menor possibilidade de interferência espectral,

porém desvantagens como estreita faixa linear, menor frequência analítica, difícil determinação de elementos não metálicos e é uma técnica sequencial (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

O ICP OES e ICP-MS apresentam vantagens como: análise rápida, simultânea, multielementares além de atingir baixos limites de detecção, ampla faixa linear, alta precisão. Porém sofrem interferências espectrais, efeito matriz, efeito do solvente e de espécies concomitantes e dificuldade em analisar sólidos sem dissolução. (OLESIK, 1991; SKOOG, 2009).

A Espectrometria de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva ainda é pouco utilizada com fins analíticos em pesquisas ambientais onde são necessários limites de detecção baixos. Esta é uma técnica com inúmeras vantagens, como: a análise multielementar, análise de amostras na forma líquida ou sólidas sem a necessidade de destruição da matriz. Quantificam-se também com esta técnica amostras líquidas. A análise é rápida, multielementar, os espectros são simples, alta precisão e exatidão e baixo custo de operação (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002; NAGATA et. al., 2001).

2.3 Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva

Define-se radiação como a propagação de energia através do espaço ou da matéria sendo esta subdividida em radiação corpuscular e radiação eletromagnética. Partículas subatômicas, de massa m , quando apresentam alta velocidade formam feixes de radiação corpuscular. Já a radiação eletromagnética não apresenta massa e possui oscilações elétricas e magnéticas (SCAFF, 1997).

O espectro eletromagnético tem faixa energética com frequência maior de 10^{19} Hz (raios gama) e 10^3 Hz (ondas de rádio). A radiação x apresenta frequência entre 10^{16} e 10^{18} Hz e energia de 10^7 a 10^9 J mol⁻¹, com capacidade de alterar a distribuição eletrônica do átomo (SKOOG et al., 2012).

O princípio da técnica de fluorescência de raios-X inicia-se quando um tubo de raios-X emite esta radiação (primária) que atinge as camadas mais próximas do núcleo do átomo a ser analisado (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2009). Para esta radiação atingir as camadas mais internas tem-se que passar pelas camadas superiores, sendo parte da radiação absorvida, ocorrendo o mesmo ao deixar a

amostra. A radiação produzida que é deixada da amostra é chamada de radiação secundária (BROUWER, 2010). As possíveis formas de raios-X secundários para aplicações em química analítica são por absorção, emissão, fluorescência e difração (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2009).

Radiações, como a da faixa do visível, contém muitos comprimentos de onda que quando separado, gera um espectro contínuo, diferente dos que são gerados pela radiação x a qual promove a produção de radiação com energia específica e característica para cada elemento, sendo gerando o espectro de linhas (BROWN, 2005).

Os raios-X, gerados por uma fonte, podem ser provenientes de bombardeamento de um alvo metálico com um feixe de elétrons de alta energia, pela exposição de uma substância a um feixe primário de raios-X para gerar um feixe secundário de fluorescência de raios-X, pelo uso de uma fonte radioativa cujo processo de decaimento resulta na emissão de raios-X, ou a partir de uma fonte de radiação síncroton. (Figura 1) (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2009).

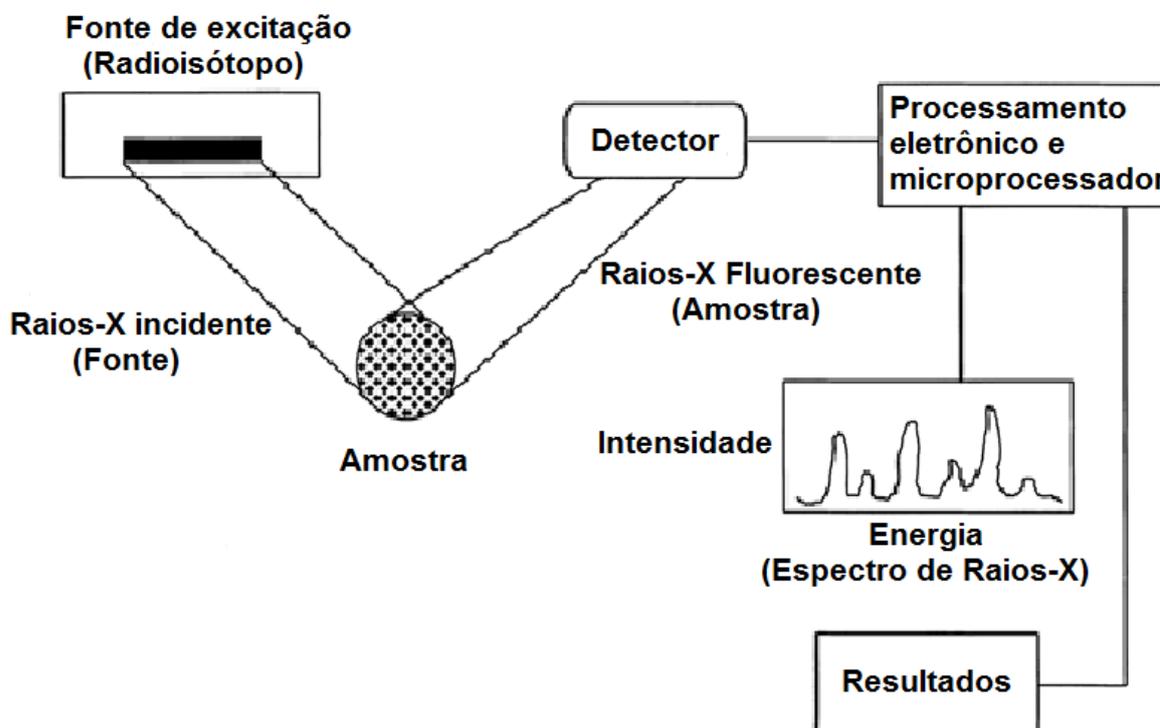


Figura 1 Diagrama de bloco do processo padrão de espectrometria de fluorescência de raios-X de Energia Dispersiva

Fonte: (KALNICKY; SINGHVI, 2001)

O feixe de raios-X primário excita elétrons das camadas mais internas, ejetando-os, independente do estado físico ou químico do elemento. Para suprir

essa vacância, imediatamente elétrons das camadas mais externas promovem saltos quânticos que preenchem esses espaços e simultaneamente fluorescem feixes de raios-X secundários, característico de cada elemento. Por fim, os fótons gerados são captados pelo detector e convertidos em sinais elétricos. Essa energia corresponde à diferença entre as energias dos níveis e sub-níveis das transições eletrônicas envolvidas (Figura 02).

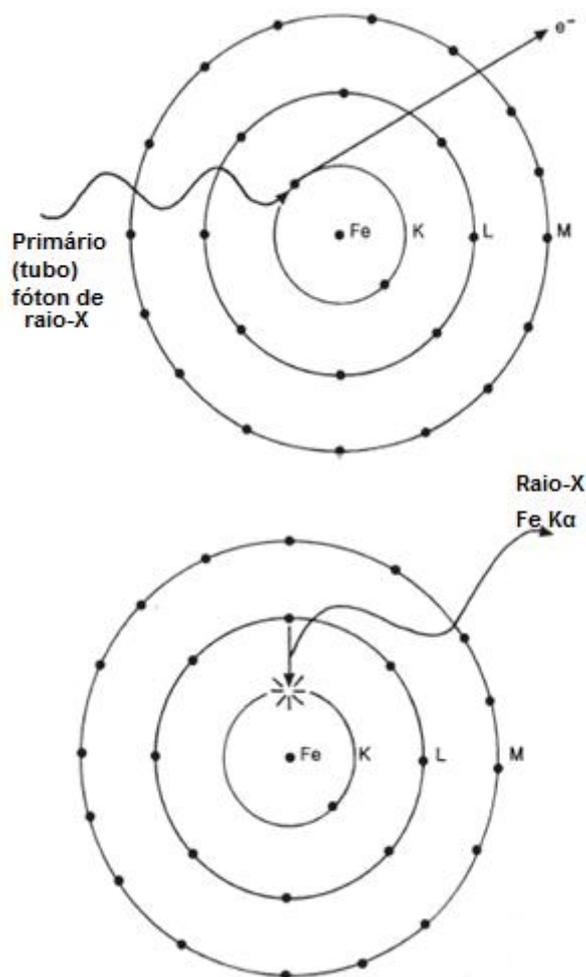


Figura 2 Representação esquemática do mecanismo de fluorescência de raios-x de um átomo de ferro que conduzem à emissão de raios-X em Fe K α

Fonte: (POTTS, 1992)

A resposta analítica do equipamento é em contagem por segundo, ou seja, medida de intensidade baseada no número de raios-X detectados em uma faixa de tempo. Os Detectores utilizados na EDXRF são de Si(Li), Ge(Li) ou Ge hiperpuro, estes são chamados de detectores de alta resolução devido sua alta habilidade de separar diretamente os raios-X característicos (MORAES, 2004).

O detector é susceptível de receber três tipos diferentes de radiações: radiação proveniente da amostra a qual o feixe primário foi filtrado, radiação dispersa e radiação difratada. Uma radiação passa pela janela de berílio, esta pode ser filtrada por um dos cinco filtros programáveis, depois de filtrada entra em contato com a amostra. Parte da radiação antes de passar pelo filtro é dispersa causando sinais indesejáveis de background e a radiação que também não passa pelo filtro pode ser difratada causando indesejáveis picos de difração. O detector recebe a radiação característica emitida pela amostra (TURQUETTI, 2011).

O instrumento de fluorescência de raios-X de Energia Dispersiva é composto por cinco componentes: a fonte, um dispositivo de seleção de comprimento de onda da radiação incidente, um compartimento para a amostra, um detector e um dispositivo de saída (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2009).

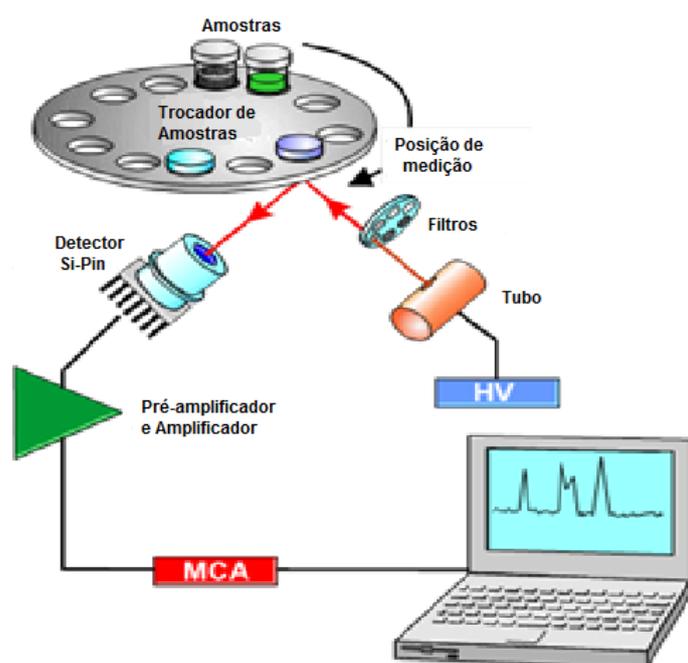


Figura 3 Esquema do Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X, HV: energia, MCA: analisador multicanal

Fonte: (TURQUETTI, 2011)

Na Figura 3 está representando o esquema do espectrômetro de fluorescência de raios-X de Energia Dispersiva Minipal 4 da empresa PANalytical.

Uma fonte mais comum de raios-X é o tubo de raios-X, também denominado de tubo de *Coolidge*. O tubo deve estar em alto vácuo com

arquitetura consistindo de um cátodo (filamento de tungstênio) e um ânodo volumoso (bloco pesado de cobre com alvo metálico como tungstênio, crômio, cobre, molibdênio, ródio, escândio, prata, ferro ou cobalto, depositado na superfície). A fonte permite gerar uma alta tensão muito estável capaz de proporcionar um potencial de 40 à 100 kV no filamento de tungstênio, brilhando e emitindo elétrons. Parte destes elétrons colide-se produzindo raios-X que passam através de uma fina janela de berílio e incidem na amostra (JENKINS, 2000).

Segundo Skoog, Holler e Nieman (2002), a produção de raios-X por bombardeamento de elétrons é ineficiente pelo fato de apenas 1% da potência elétrica ser convertida em potência radiante, os 99% restante são dissipados na forma de calor. Entre os diversos equipamentos de raios-X diferem-se na fonte em que são gerados esses raios.

Os espectrômetros de Fluorescência de raios-X de Energia Dispersiva (EDXRF) diferem em alguns aspectos do equipamento de fluorescência de raios x de comprimento de onda dispersivo (WDXRF). Este último possui goniômetro e cristal móvel, pode fazer medições sequenciais e ser mais sensível para elementos mais leves. O EDXRF faz medições simultâneas com melhor resolução e sensibilidade para elementos com massa molar mais alta, entre outras diferenças (BROUWER, 2010). Espectrômetros de fluorescência de raios-X, segundo Skoog, Holler e Nieman (2009), possuem filtros e monocromadores que têm a mesma função que é estreitar uma faixa de comprimentos de onda. O monocromador é composto de dois colimadores de feixe, que consiste normalmente em uma série de placas de metal ou tubos que absorvem todos os feixes de radiação exceto os feixes paralelos, e de um monocristal sobre um goniômetro, ou placa rotatória que permita a variação e medição precisa do ângulo entre a face do cristal e do feixe colimado incidido. Monocromadores modernos para raios-X são monitorados por um software em que comanda a movimentação mecânica do cristal e do detector de forma independentes sendo capaz de varrer o espectro em aproximadamente 240° por minuto.

Constituintes da atmosfera absorvem radiação X mais longas do que 2 Å, por este motivo é empregado um fluxo de hélio nos compartimentos da amostra e do monocromador quando são necessários comprimentos de onda superior (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2009).

Em equipamentos de raios-X são comumente utilizados três tipos de transdutores: transdutores a gás, contadores de cintilação e transdutores de semicondutores. Transdutores de semicondutores ocupam lugar de maior importância no mercado como o detector de radiação X também chamado de detectores de silício (ou germânio) com lítio difundido.

No detector existe um cristal no qual há três camadas, uma camada mais externa do tipo p que é recoberta com uma fina camada de ouro que possui função de fazer o contato elétrico, e coberta com berílio, que é transparente aos raios-X, outra camada é de alumínio que recobre o silício tipo n onde passa o sinal de saída, este está ligado a um pré-amplificador com função de aumentar o sinal em 10 vezes. O detector é formado pelo vapor de lítio depositado na superfície de um cristal de silício dopado do tipo p . O cristal é aquecido a uma temperatura entre 400°C e 500°C, assim o lítio difunde no cristal, como perde elétrons facilmente, sua presença converte a região do tipo p em uma região do tipo n . Ainda em alta temperatura é aplicado um potencial através do cristal, provocando a saída dos elétrons da camada do lítio e lacunas da camada tipo p . Com a junção pn a corrente causa migração, ou difusão, dos íons lítio para a camada p e a formação da camada intrínseca, em que os íons lítio substituem as lacunas perdidas por condução. O detector deve ser resfriado para diminuir toleravelmente o ruído eletrônico. O sinal do pré-amplificador é enviado para um amplificador de resposta linear rápida onde será processado o sinal de acordo com a altura do pulso. (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2009)

A Fluorescência de Raios-X possui diversas vantagens: é uma técnica de análise direta, evita intensa preparação de amostra, (MELLO et. al., 2012) simples, rápida, de baixo custo de análise, os espectros são simples, é um metodologia não destrutivo, pode ser feita análise multielementar de sódio a urânio na tabela periódica, capacidade de análise qualitativa e quantitativa, pode operar com amostras líquidas ou sólidas, possui alta precisão e alta exatidão (NAGATA et. al, 2001). Porém, o intervalo de concentração de análise, que está relacionado com o limite de detecção, é de concentração entre 0,01 a 100%, sendo inadequado para elementos leves e podem-se analisar elementos de massa atômica superior a do sódio (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

É muito comum a ocorrência de efeito matriz que pode ser resolvido por calibração com padrões, uso de padrões internos ou diluição de amostras e

padrões. Pode haver também interferência espectral. Para contornar esse efeito, é possível utilizar o processo de separação química, metodologias matemáticas ou a escolha de uma linha espectral alternativa, mesmo que não seja o pico de maior intensidade, mas que tenha uma boa intensidade na resposta analítica (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002; NAGATA et. al., 2001).

A técnica de Fluorescência de Raios-X é uma ótima ferramenta para análise de elementos inorgânicos, tem potencialidade de classificar e quantificar compostos orgânicos de forma simultânea (ALEXANDRE, 2007). Segundo WEST (1984) é possível medir sulfatos, com deposição de filtros, utilizando o espectrômetro de fluorescência de raios-X de Energia Dispersiva.

. Uma importante alternativa para diminuir o limite de quantificação da Fluorescência de Raios-X é a separação química, como a pré-concentração. Existe pouca bibliografia com a técnica e na literatura não foi encontrada uma metodologia combinada para análise de metais tóxicos em solos, com confiabilidade e validade, utilizando a Espectrometria de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva.

2.4 Pré-concentração

Uma das etapas críticas do processo analítico é o preparo de amostra. A partir de um procedimento adequado, conseguem-se melhores precisões e menores limites de detecção (MARTINS, 2012). Muitas vezes, é necessário converter a amostra em uma forma adequada para proceder à análise, devido à forma de introdução de amostra no equipamento, complexidade da matriz e interferências (KRUG, 2008).

Dentre as estratégias existentes de preparo de amostras, são estabelecidas metodologias de separação e pré-concentração que permitem simplificar a matriz e eliminar ou minimizar o efeito de matriz e concomitantes (BEZERRA, 2007). Tem-se como metodologias de pré-concentração a coprecipitação, extração em fase sólida, extração em ponto nuvem e extração em fase líquida (KORN, 2006), que em prol da química verde desenvolvem-se de forma miniaturizada, que atualmente, é ainda mais explorada, como a microextração dispersiva em fase sólida, (PYTLAKOWSKA, 2016), sensores

miniaturizados (VAN DE VELDE; D'ANGREMONT; OLTHUIS, 2016), microextração em fase sólida, nanoextração, microextração em fase líquida, entre outras (OCAÑA-GONZÁLEZ, 2016).

A associação entre a técnica de espectrometria de fluorescência de raios-x com pré-concentração também vem sendo desenvolvida empregando a pré-concentração em filtro de celulose (GORDEEVA^a et. al., 2002), em filtro de celulose tratada em camada fina de parafina (GORDEEVA^b et. al., 2003), por cristalização (EKSPERIANDOVA; MAKAROVSKA; BLANK, 1998), com sílica gel modificada (BELIKOV et. al., 1999), por precipitação e co-precipitação em membrana (PENG et. al., 2012), pré-concentração em papel filtro modificado (HASSAN et. al., 2014), extração em fase sólida com nanotubos de carbono (MANGUÍ^a, et. al., 2013), com espuma de poliuretano (PEREIRA et. al., 2014). Até a presente revisão da literatura, há quatro trabalhos que apresentam a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) com quantificação por EDXRF (KOCOT; ZAWISZA; SITKO, 2012), (MARGUÍ^b, et. al., 2010), (SITKO, et. al., 2011) e (PYTLAKOWSKA; SITKO, 2013), todos aplicados em matrizes aquosas. Esses são estudos recentes, devido o início da utilização desta técnica juntamente com a metodologia de pré-concentração, DLLME.

2.4.1 Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME)

Devido à conscientização em relação ao meio ambiente e sabendo dos impactos ambientais provenientes de resíduos laboratoriais, surge a tendência de miniaturização de procedimentos, como as microextrações. Estas necessitam de poucas quantidades de reagentes e amostras. O sistema de pré-concentração conhecida como microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) é uma metodologia de simples operação, rápida, de baixo custo, depende de pequenas quantidades de amostra e solventes orgânicos, elevadas recuperações e fatores de enriquecimento (BALIZA; GOMES; LEMOS, 2009).

A DLLME baseia-se em um sistema de solventes que contém um complexante, um solvente dispersor miscível em meio aquoso e um solvente de extração (imiscível em água). Estes reagentes são injetados rapidamente em uma amostra contendo os analitos em meio aquoso. Em seguida essa mistura é

centrifugada e os analitos enriquecidos na fase sedimentada são recolhidos e determinados por diferentes técnicas analíticas. O solvente extrator precisa ser capaz de extrair os compostos de interesse, ser mais denso e pouco miscível na água. Quanto menor o volume de solvente extrator, maior será o fator de enriquecimento devido à redução do volume da fase rica. Parâmetros significativos para a eficiência de extração são o solvente extrator e dispersor adequado e os volumes destes (SARAJI; BOROUJENI, 2014) (REZAEI; YAMINI; FARAJI, 2010).

2.5 Planejamento fatorial e otimização

Entre as estratégias disponíveis para condução de uma pesquisa científica, tem-se o planejamento fatorial e a otimização. Segundo Ferreira (2015, p. 17) “as técnicas de planejamento de experimentos são ferramentas estatísticas empregadas para planejar e otimizar experimentos. Geralmente, essas técnicas estabelecem modelos matemáticos passíveis de interpretação e validação”. Luzardo (2001) afirma que no planejamento fatorial é possível controlar todos os fatores que tem influência sobre a variável dependente e fornece uma base para desenvolver modelos matemáticos com as condições ótimas.

Aplica-se um planejamento fatorial com o objetivo de identificar os fatores que têm influência sobre a resposta dentro do intervalo experimental escolhido, bem como respectivas significâncias. É necessário o conhecimento do experimento de forma que minimize os efeitos dos fatores incontroláveis e utilizar a análise estatística para separar e avaliar os efeitos dos fatores envolvidos (MILLER; MILLER, 2010).

A partir dos resultados obtidos de um planejamento fatorial, deve-se otimizar as variáveis que apresentaram significância no experimento. Se houve uma única variável significativa, deve-se otimizar-la mantendo constante todas as outras variáveis nas melhores condições encontradas e variando apenas a que necessita de otimização, posteriormente, constrói-se um gráfico com as respostas analíticas versus os valores otimizados, gera-se um modelo quadrático, aplicando a primeira derivada desta função obtida tem-se o valor de máxima resposta analítica, ou valor ótimo. Se houver mais de uma variável a ser otimizada,

algumas das metodologias para otimização das variáveis são: Matriz de Doehlet, desenho composto central, planejamento Box Behnken entre outros. (FERREIRA, 2015; LUZARDO, 2001)

A partir da revisão de literatura, pode-se observar que não foram encontradas artigos com a utilização da medição direta com o Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X combinado a metodologia de microextração líquido-líquido dispersiva, assim como não foram encontradas metodologias com confiabilidade e validade para quantificação de Co, Cr, Cu, Ni e Pb em solo.

3.0 METODOLOGIA

O trabalho de pesquisa foi desenvolvido em duas etapas. Numa primeira etapa, foram desenvolvidas as pesquisas do preparo de amostra, as análises diretas qualitativas e quantitativas das amostras de solo, por Espectrometria de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva, que permitiu obter as condições de operação do espectrômetro e foram estabelecidas as curvas de calibração para cada metal e as condições analíticas a partir dos limites de detecção e quantificação da técnica para cada elemento. Na segunda etapa, foi realizada a otimização do procedimento de pré-concentração baseada na microextração líquido-líquido dispersiva complementando a primeira e garantindo a determinação de concentrações inferiores aos níveis permissíveis pela resolução 420 da CONAMA (2009) para medições com confiabilidade e validade usando a EDXRF. As metodologias desenvolvidas foram validadas de acordo com as recomendações da IUPAC (THOMPSON; ELLISON E WOOD, 2002) e INMETRO (DOQ-CGCRE-008, 2011), e aplicadas as análises dos íons de Cr, Co, Cu, Ni e Pb em solos.

3.1 Preparação das amostras de solo

O solo utilizado como controle ou branco, foi coletado da camada mais superficial até 20,0 cm de profundidade, armazenado em sacos de rafia com capacidade de 60,0 kg, do município de Jaguaquara– Bahia, na Fazenda Hortifruti Roque Martinelli. Este foi coletado para o estudo de bioacumulação de metais em plantas de CORREIA (2017). O solo (Latosolo vermelho distrófico, arenoargiloso, composto de em média 50% de areia e 35% de argila) foi peneirado para retirar pedras e galhos, e autoclavado para eliminar microorganismos vivos.

Estas amostras foram separadas em uma placa de Petri, secas em estufa de circulação forçada à temperatura de $(103 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ por quatro horas e mantidas no dessecador até que atingisse temperatura ambiente e depois de estabilizada a temperatura, foram armazenadas no laboratório a 20°C , e umidade abaixo de 50% (QUINÁGLIA, 2006).

3.1.1 Tamanho de partícula

As amostras de solo secas foram trituradas em gral e pistilo de porcelana e peneiradas em malhas Bertel com aberturas de 100, 115, 170, 325 e 400 mesh. Avaliou-se a influência do tamanho de partícula na intensidade de fluorescência em contagens por segundo (cps).

3.2 Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva

O Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva utilizado foi o MiniPal 4 da PANalytical (Figura 4), equipado com trocador de amostras com 12 posições, ânodo do tubo de raios-X de ródio, janela de berílio com espessura de 13 μm e detector de Si PIN, potência máxima de 9 W, corrente de 1 a 1000 μA e voltagem de 4 a 30 kV, filtros de Kapton (50 μm), Al fino (50 μm), Al (200 μm), Mo (100 μm) e Ag (100 μm).



Figura 4 Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X MiniPal PANalytical 4

3.3 Determinação da massa de amostra para as análises

Pesaram-se massas de 0,2; 0,6; 0,8; 1,0; 1,4 e 2,0 g do material de referência de sedimento (RM 8704 - Buffalo River Sediment – NIST) e observada a resposta analítica para o chumbo ao decorrer do aumento de massa que foi adicionada ao recipiente apropriado para análise por EDXRF (Figura 5), com película de

polipropileno, altura de 2,85 cm e diâmetros de 2,78 cm (interno) e 3,44 cm (externo), nas condições de corrente de 300 μ A, potência de 30 kV, filtro de prata e tempo de 60 s.



Figura 5 Recipiente com película de polipropileno, altura de 2,85 cm e diâmetros de 2,78 cm (interno) e 3,44 cm (externo) apropriado para análise por EDXRF, o recipiente com solo e o espectrômetro

3.4 Determinação do tempo de incidência da radiação

Pesou-se ($2,0 \pm 0,0001$) g do material de referência (RM 8704 - Buffalo River Sediment – NIST) e determinaram-se as contagens por segundo do elemento chumbo em tempos de 1, 2, 3 e 5 min nesta amostra. Avaliou-se a influência da variação do tempo na intensidade das medições e definiu-se o tempo de análise.

3.5 Análise Qualitativa

Para análise qualitativa, ($2,0 \pm 0,0001$) g da amostra base seca previamente seca, macerada, peneirada, adicionada em recipiente específico e realizada uma varredura dos elementos presentes na amostra com o espectrômetro nas seguintes condições: Linha $K\alpha$, filtro <Ni-Ag> no tempo de 60 s. O filtro <Ni-Ag> tem energias de 30 KV, 300 μ A e ambiente de ar atmosférico. Os espectros foram analisados, tendo em vista os elementos que apresentam

maior intensidade do pico, o majoritário e observando as linhas específicas dos elementos interferentes e as intensidades das medições desses.

3.6 Análise Quantitativa

3.6.1 Curvas de calibração

Com o solo controle seco, macerado e peneirado com partículas de tamanho de 170 mesh, foi pesado ($2,0 \pm 0,0001$) g em béqueres e acrescentado padrões de Co, Cr, Cu, Ni e Pb de acordo com as concentrações de 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 e 270 mg kg⁻¹ de cada elemento para o desenvolvimento da curva de calibração e com 1,0 mL de água destilada para melhor homogeneidade. Os béqueres foram novamente secos em estufa por uma hora, posteriormente o solo foi transferido para os recipientes específicos para análise. As medições foram feitas em triplicata e o *software* do espectrômetro de fluorescência de raios-x aplicou a deconvolução, que se trata de um algoritmo que tem por objetivo melhorar a resolução da curva.

3.6.2 Limite de detecção e quantificação

Os cálculos de limite de detecção e limite de quantificação foram calculados de acordo com os critérios da IUPAC (THOMPSON; ELLISON E WOOD, 2002) e INMETRO (DOQ-CGCRE-008, 2011), nas quais apresentam as seguintes fórmulas.

$$LD = \bar{x} + t_{n-1, 1-\alpha} \cdot S \quad \text{Equação 1}$$

$$LQ = \bar{x} + 10S \quad \text{Equação 2}$$

Sendo: \bar{x} = média dos valores dos brancos da amostra; t é a distribuição de t de Student, de acordo ao tamanho da amostra e do nível de confiança e, S = desvio-padrão amostral dos brancos da amostra.

3.7 Microextração Líquido-Líquido Dispersiva

Para o estudo do sinal analítico, foi utilizada a metodologia de Santos (2016) com modificações. Em um tubo de ensaio com tampa, adicionou-se 5,0

mL de solução padrão com concentrações de 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Co, Cr, Cu, Ni e Pb, ajusta-se o pH com 1 mL de solução tampão borato de pH 7,32 (tetraborato de sódio decahidratado da marca Sigma-Aldrich), posteriormente adiciona-se 100 μL do reagente complexante 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) 0,1% (Aldrich chemistry), que tem maior capacidade de complexar os diferentes íons do trabalho, exceto o cobre que até a presente revisão de literatura não foi encontrado nenhum trabalho com a complexação TAC-Cu. (LE MOS et al., 2015) (SAAVEDRA et al., 2013) (MOHAN; PITTMAN, 2006) (CASSELLA et al., 2001). Então injetou-se rapidamente uma mistura binária (24:1) com 1,2 mL de metanol (Merck) (solvente dispersor) e 50 μL de tricloroetileno (Synth) (solvente extrator). Posteriormente a solução foi centrifugada, em centrifuga (SL-700 Solab), recolheu-se 40 μL da fase sedimentada em 4 vezes de 10 μL e adicionou-se no suporte de filtro qualitativo (J. Prolab) com espessura de 205 μm com maioria dos poros de 14 μm e diâmetro de 4 mm. A placa de Petri, com o suporte, foi aquecida a temperatura próxima a 87°C, em placa de aquecimento (Solab), para secagem mais rápida sem que haja perda de analito e levou-se para a detecção no Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva. Levou-se também o branco do experimento (suporte sólido puro e com 40 μL do solvente extrator). Os experimentos foram feitos em triplicata.

3.7.1 Seleção do suporte sólido

Para a seleção do suporte sólido, aplicou-se o procedimento de pré-concentração com a metodologia de microextração líquido-líquido dispersiva previamente estabelecida, com a concentração de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos padrões de Cr(III), Co(II), Cu(II), Pb(II) e Ni(II) e adicionou-se em 5 tipos diferentes de suportes sólidos. O suporte denominado de 1 foi o papel que vem acompanhado com as películas de polipropileno que servem como suporte para a análise por EDXRF. O suporte 2 foi o papel quantitativo de filtração lenta para precipitados grossos e gelatinosos (segundo o fabricante), (UNIFIL). O suporte 3 foi o microfiltro de fibra de vidro GF-3 (MN Macherey-Nagel). O suporte 4 foi a membrana HA em éster de celulose (nitrate 75 - 80% e acetato

MILLIPORE). O suporte 5 é o papel filtro qualitativo (J Prolab). O suporte foi posicionado no centro do suporte apropriado para detecção por EDXRF.

Para a avaliação dos resultados, realizou-se o teste estatístico de comparação múltipla de médias de Duncan com o auxílio do pacote estatístico STARTGRAPHICS Plus.

3.7.2 Destruição da matéria orgânica

Para aplicar a metodologia de pré-concentração desenvolvida, fez-se necessária à digestão das amostras, aplicada a metodologia modificada da Agência de Proteção Ambiental (EPA 3050B) para digestão ácida de sedimento, lodo e solo.

Pesou-se 0,1 g da amostra de solo, adicionou-se em tubos de digestão com dedo frio com inicialmente 3 mL de ácido nítrico e aqueceu-se a (101 ± 5) °C por três horas, seguido de mais uma adição de 1 mL do ácido que permaneceu em aquecimento por uma hora. Após as adições de HNO₃ Merck acrescentou-se a cada hora 1 mL de peróxido de hidrogênio por duas vezes. Diluiu-se o digerido para 25 mL.

3.7.3 Otimização da metodologia de pré-concentração

De acordo com as condições e variáveis da metodologia de pré-concentração fundamentada por Santos (2016) foi desenvolvido um planejamento fatorial 2³, sendo as variáveis independentes: pH, nos níveis de 5,5 e 8,5; volume do solvente dispersor (0,5 e 1,5 mL) e volume do solvente extrator (20 e 60 µL), de acordo com a Tabela 1. A concentração do complexante e volume foi mantida constante em 500 µL de TAC (0,1% m/v), que garante a completa complexação dos metais em estudo. E a variável dependente é a intensidade de fluorescência em contagens por segundo (cps).

Tabela 1 Planejamento fatorial 2³ com as variáveis e os valores dos níveis pesquisados.

	pH	Solvente Dispersor (mL)	Solvente Extrator (µL)
1	5,5	0,5	20
2	8,5	0,5	20
3	5,5	1,5	20
4	8,5	1,5	20
5*	5,5	0,5	60
6	8,5	0,5	60
7	5,5	1,5	60
8	8,5	1,5	60

*Do experimento 5 foram realizadas 3 replicatas para determinar a variância do erro puro.

A partir dos resultados obtidos do experimento fatorial, realizou-se a otimização considerando uma única variável que se verificou significativa. O processo de otimização univariado foi realizado até encontrar um decaimento da resposta analítica. Aplicou-se a primeira derivada da equação quadrática obtida e calcularam-se as condições de ótimo para essa variável em cada metal. Posteriormente, aplicou-se a metodologia de desejabilidade global e calculou-se a média geométrica dessa variável para determinar as condições experimentais de ótimo global (FERREIRA, 2015; LUZARDO, 2001).

3.7.4 Avaliação de interferentes

Para a avaliação dos possíveis interferentes dos analitos neste sistema, aplicou-se a metodologia desenvolvida e adicionou-se proporções de 1:1, 1:10 e 1:100 de analito e interferentes (Mg(II), Mn(II), Fe(II), Zn(II), Cd(II), Al(III) e Ca(II)) e aplicou-se um teste de t de “student” para comparar médias aparelhadas.

3.7.5 Validação

Para validar a metodologia desenvolvida, com as condições ótimas globais, foram realizadas quatro replicatas do procedimento e aplicou-se um

teste de t de “student” comparando os resultados experimentais com o valor do ótimo teórico obtido pelo modelo.

3.7.6 Limite de detecção e quantificação para a pré-concentração

Os limites de detecção e quantificação foram calculados de acordo com as seguintes equações, onde K é a sensibilidade expressa em cps/ppm; B o background (média dos valores dos brancos da amostra) e t o tempo de incidência da radiação x na amostra. (PYTLAKOWSKA; SITKO, 2013; MELQUIADES^b, 2007; ZAWISZA; SITKO, 2013; KOCOT, 2015)

$$LD = \frac{3}{K} \sqrt{\frac{B}{t}} \quad \text{Equação 3}$$

$$LQ = \frac{10}{K} \sqrt{\frac{B}{t}} \quad \text{Equação 4}$$

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise direta de solos por EDXRF

4.1.1 Determinação da massa de amostra

A determinação da quantidade da massa de amostra é importante, pois este fator influencia na análise por EDXRF, quanto maior a massa maior a possibilidade de absorção da radiação (MARGUÍ; QUERALT; HIDALGO, 2009). Para determinar a massa de amostra, necessária para as análises por EDXRF, foi utilizado o material de referência RM 8704 – NIST – Buffalo River sediment. Para avaliar os possíveis interferentes espectrais foi gerado o espectro qualitativo deste material de referência está exposto na Figura 6. Foram marcados todos os elementos presentes nesse sedimento, segundo o certificado do material de referência. Os elementos Cr, Co, Cu, Ni são quantificados nas linhas $K\alpha$ e Pb na linha $L\alpha$, correspondendo as linhas de energia 5,411; 6,924; 8,040; 7,471 e 10,550 KeV, respectivamente.

O certificado do material de referência (Tabela 19 em apêndice) mostra que há $(150 \pm 17) \text{ mg kg}^{-1}$ de chumbo nesta amostra, o espectrômetro computou 56 contagens por segundo deste elemento, porém, sabe-se que a linha $K\alpha$ do arsênio (10,530 KeV) causa uma interferência espectral na linha $L\alpha$, a mais intensa, do chumbo. No material de referência não consta a presença de cobre.

Alguns elementos são quantitativamente melhores de serem analisado em filtros diferentes, devido ao material, a espessura, as energias e correntes em que estes são submetidos. Nas Figuras 7 e 8 apresentam-se os espectros qualitativos do material de referência nos filtros <Ni-Ag> e <Cl-V> respectivamente e observa-se que as contagens por segundo do ferro no filtro <Cl-V> apresentam valores próximos de 1600 cps diferente deste mesmo elemento no filtro <Ni-Ag> que apresenta contagens de 180 cps. Os diversos analitos deste trabalho são melhores identificados no filtro <Ni-Ag>.

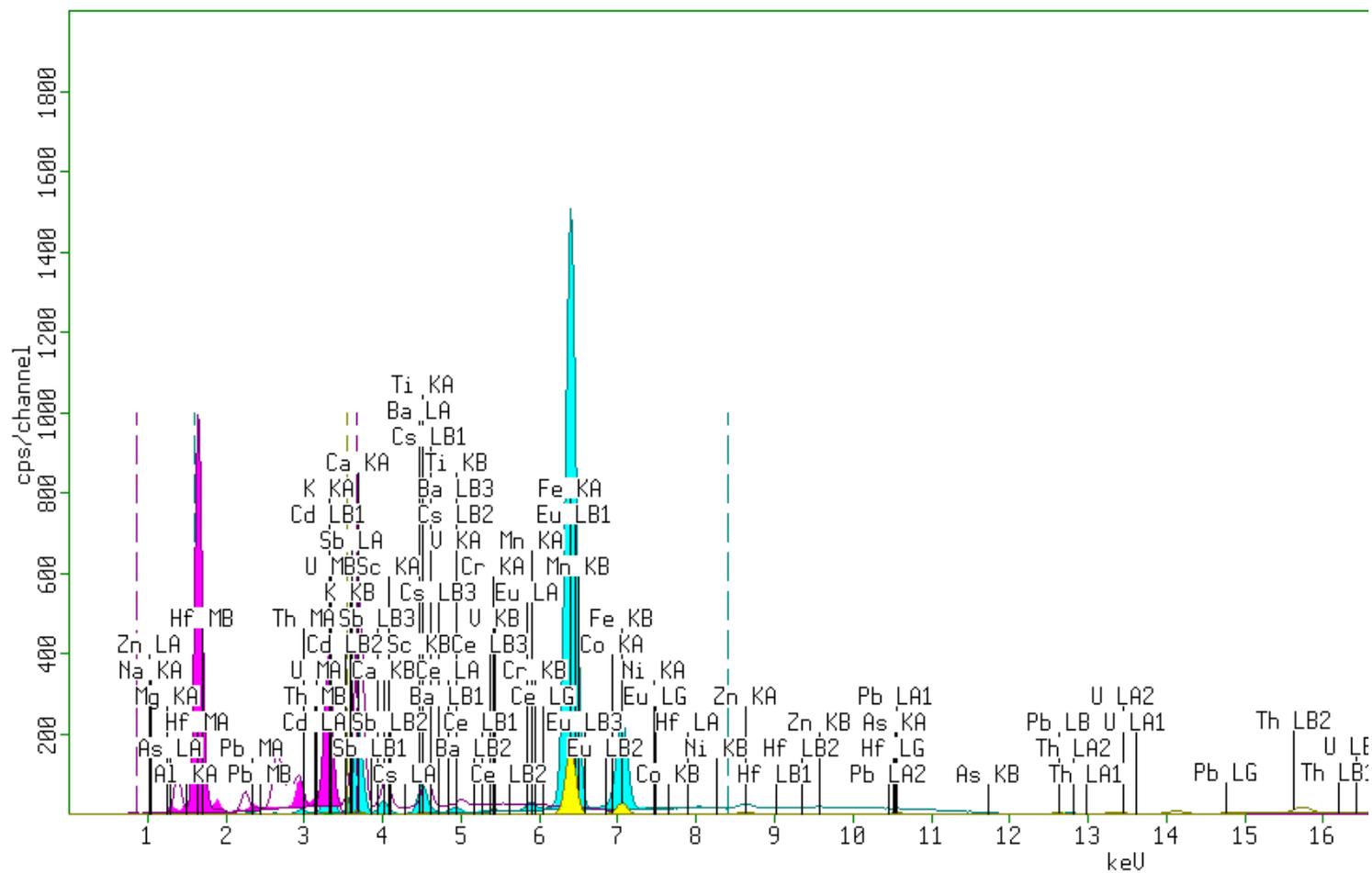


Figura 6 Espectro qualitativo de Fluorescência de raios-x do material de referência RM 8704 - NIST, analisado com filtro de prata <Ni-Ag> (amarela), 30 kV, 300 μ A, tempo de 60 segundos; com filtro de alumínio fino <Al-V> (azul), 12 kV, 550 μ A e na abertura <Na-S> (roxa) 4,0 kV, 2 μ A

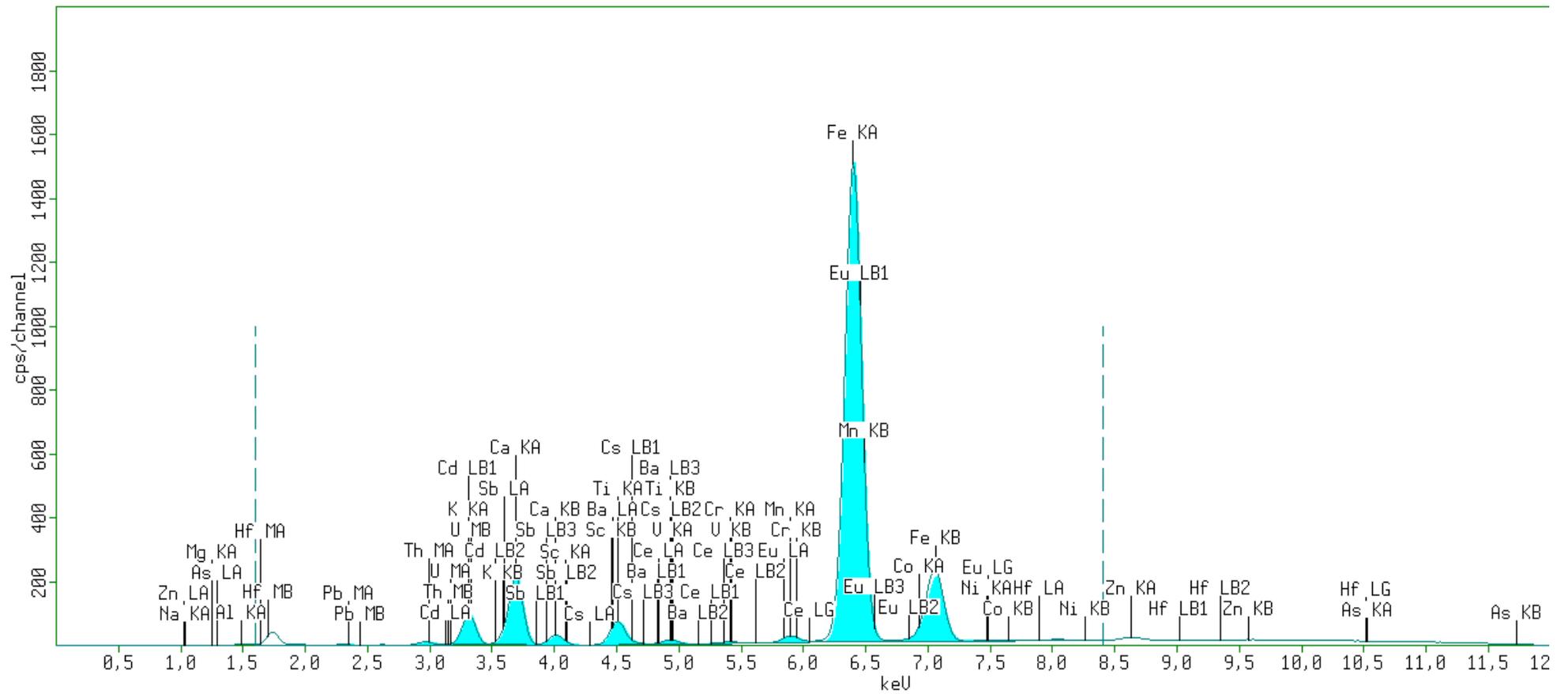


Figura 8 Espectro de Fluorescência de raios-X do material de referência RM 8704 – NIST analisado com filtro <Cl-V> de alumínio fino, 12 kV, 550 uA

Na Figura 9, mostra-se a relação entre as quantidades de massa de material de referência e a resposta analítica para o chumbo. Como previsto, com o aumento da massa de amostra acrescenta também a resposta analítica até que não haja diferença significativa nas intensidades.

A equação 1 foi obtida da curva de variação de massa da amostra. Aplicando a primeira derivada da equação, tem-se o extremo em 1,55. Porém, a intensidade de fluorescência é maior em 2 g, então ficou definido em utilizar uma massa de $(2,0 \pm 0,0001)$ g de amostra sendo possível conseguir adequada intensidade na resposta analítica. Um comportamento semelhante foi encontrado por Margui et. al. (2006) e Marguí (2009) em amostras vegetais.

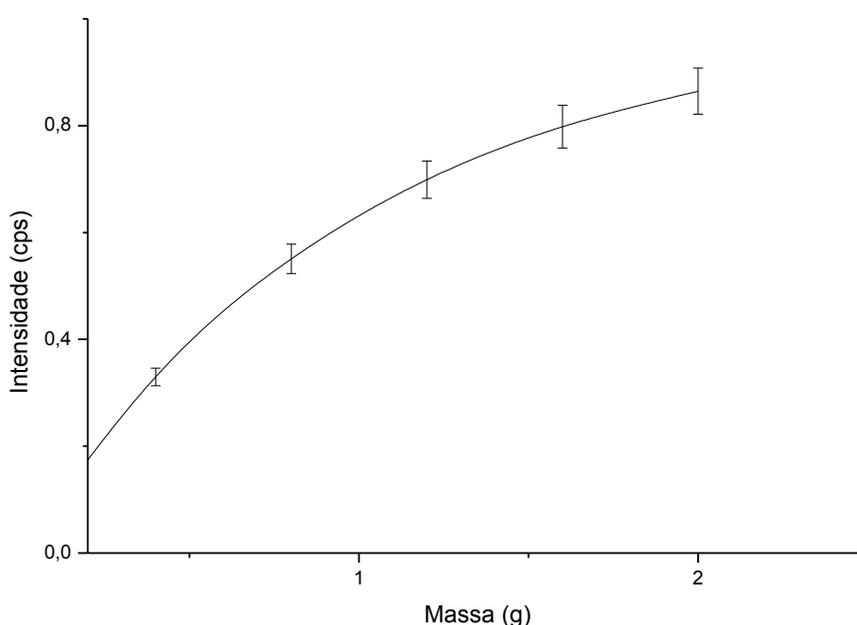


Figura 9 Influencia de diferentes quantidades de massa do material de referência RM 8704 – NIST na intensidade da medição, analisado com filtro <Ni-Ag> de prata, 30 kV, 300 μ A, tempo de 60 s para o elemento chumbo e n=3.

$$y=8,64e^{-e^{0,0260-1,546x}} \quad \text{Equação 5}$$

4.1.2 Tamanho de partícula

Para o estudo do tamanho de partícula, foi utilizado o solo controle (Latosolo vermelho distrófico, arenoargiloso, composto de em média 50% de areia e 35% de argila) com espectro qualitativo representado na Figura 13. Comparando-o com o espectro do material de referência, podemos destacar a linha $K\alpha$ do ferro que se mostra muito intensa nas duas análises. No material de

referência, observa-se que o Fe possui concentração menor do que a do alumínio (Tabela 19 em apêndice) e o pico mais intenso (Figura 7), representando a maior sensibilidade do espectrômetro para este metal, sendo possível também a ocorrência de interferência entre elementos (CHRISTENSENT; PIND, 1981).

Na linha $K\alpha$ do cobalto (6,924 KeV) no solo controle, apresenta um pico intensidade representativa. Esta intensidade pode ser consequência de interferências com outros elementos.

Em relação ao tamanho de partícula, também existe uma grande influência com à intensidade em contagem por segundo medida na fluorescência de raios-x de Energia Dispersiva. Omote, Kohno e Toda (1995) relatam e Marguí, Queralt e Hidalgo (2009) afirmam que é possível obter resultados constantes nas intensidades com tamanho de partículas menores de 710 μm (25 mesh) para amostras de material vegetal. Na Figura 10 mostra-se o comportamento do experimento executado.

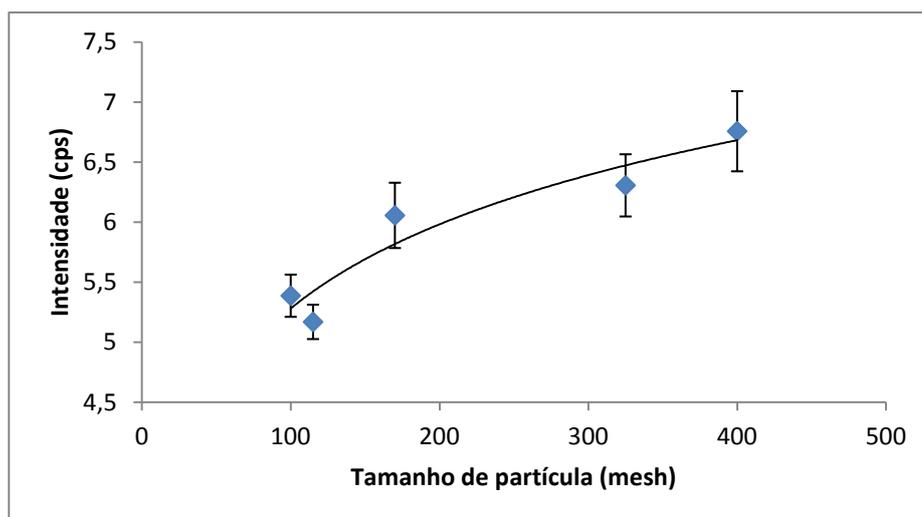


Figura 10 Influência do tamanho de partícula na intensidade de fluorescência, n=3

Foi aplicado um teste de análise múltipla de médias com pacote estatístico STATGRAPHICS.PLUS V.5.1 do resultado da avaliação do tamanho de partícula, e verificou-se que não há diferença significativa entre os tamanhos de partícula de 170 mesh e os de tamanhos menores com um nível de confiança de 95%.

Para confirmar o resultado mostrado na Figura 10, foram construídas duas curvas de calibração com limite linear de 270 mg kg^{-1} com tamanhos de partículas de solo, menores do que as sugeridas por Omote, Kohno e Toda (1995) e confirmada por Marguí, Queralt e Hidalgo (2009), de 100 mesh (150 μm) e 170 mesh (90 μm), como mostra as Figuras 11 e 12. De acordo com os resultados das

curvas de calibração realizada, pode-se verificar que o coeficiente de correlação entre os pontos de concentrações crescentes, com amostra de tamanho de partículas de 100 mesh, não foi aceitável, enquanto com partículas de 170 mesh de tamanho obteve-se um coeficiente de correlação de 0,9996, considerado como satisfatório. Encontram-se resultados discordantes em relação ao relatado por este autor como pode ser observado, ele afirmaram que com tamanhos de partículas de 25 mesh já é satisfatória a quantificação. Porém a resposta analítica melhora significativamente com a redução do tamanho de partícula alcançando valores mais aceitáveis em solo a partir de 170 mesh (90 μm). Diminuindo o tamanho de partícula, aumenta-se a representatividade da amostra.

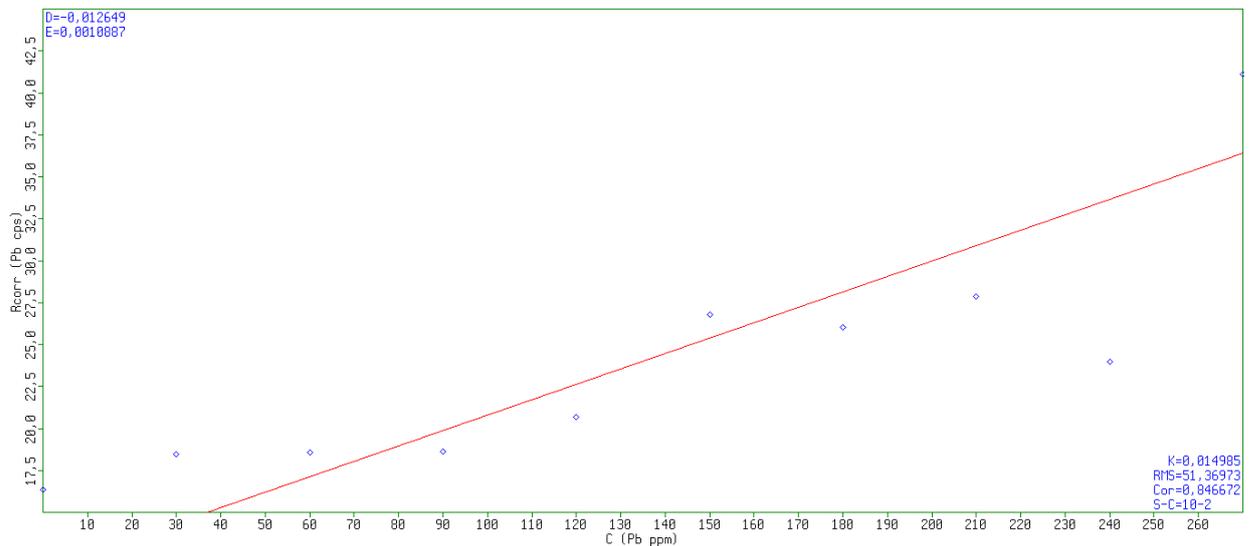


Figura 11 Curva de Calibração de Pb tamanho de partícula de solo de 100 mesh, onde onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação.

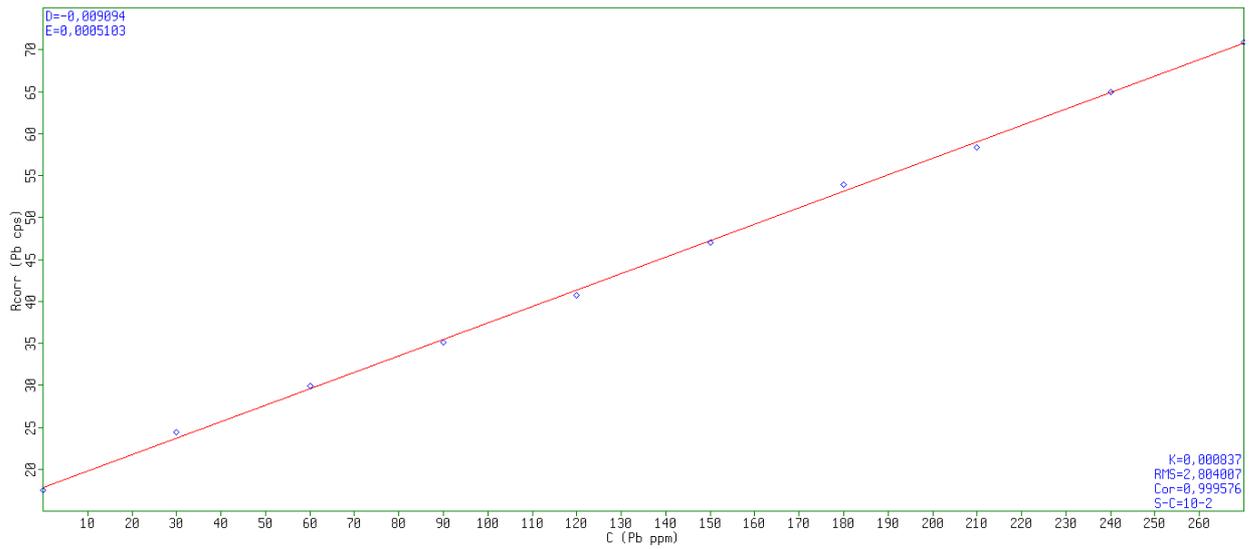


Figura 12 Curva de Calibração de Pb tamanho de partícula de solo de 170 mesh, onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação.

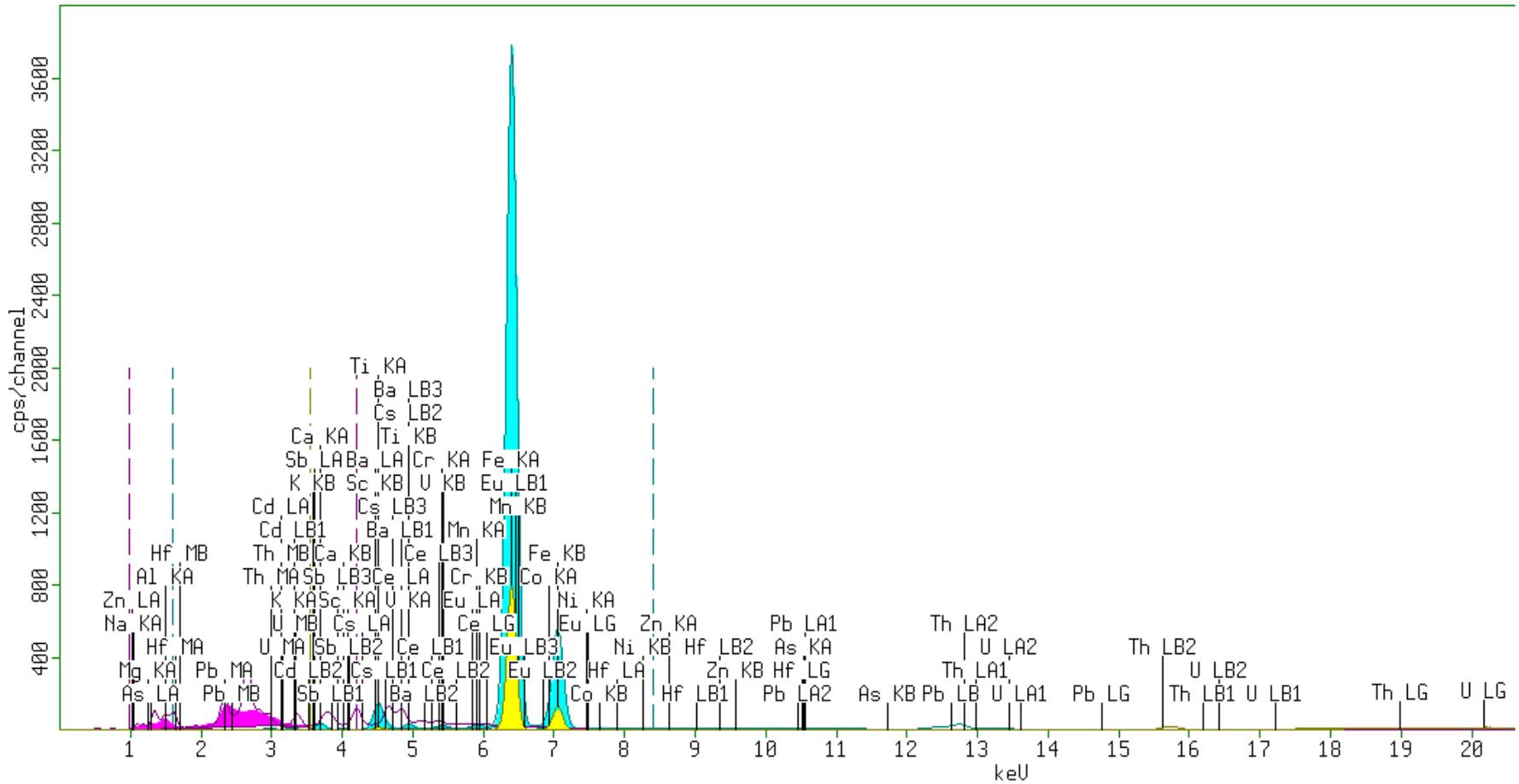


Figura 13 Espectro qualitativo do solo controle com elementos do material de referência marcados nos três filtros

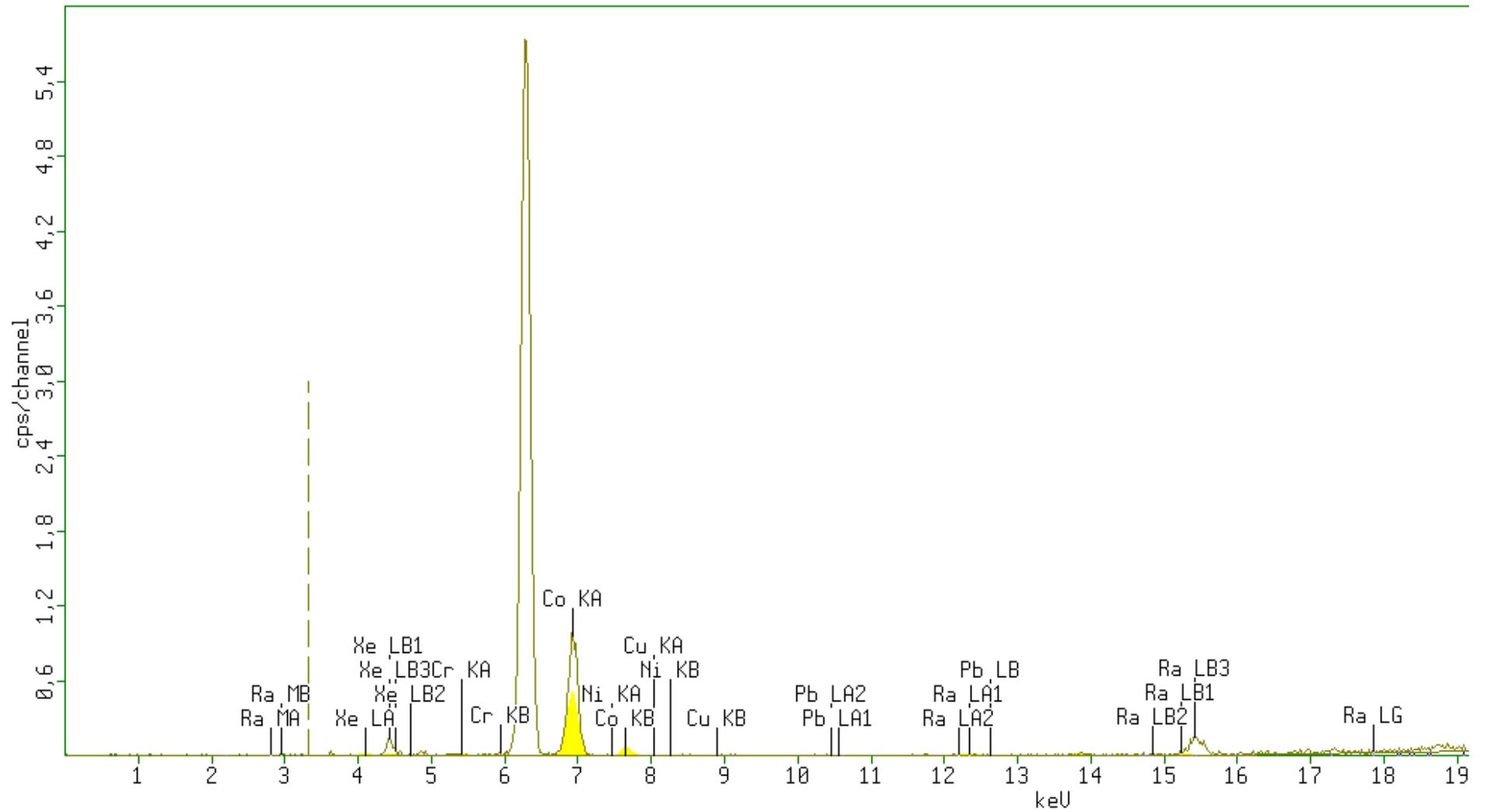


Figura 14 Espectro qualitativo do solo controle, filtro <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos

4.1.3 Tempo de incidência da radiação

Para determinar o tempo de análise da metodologia, foi desenvolvido o estudo dessa variável de 1 a 5 minutos, como mostra a Tabela 2. Esperava-se que ao aumentar o tempo de incidência da radiação-x na amostra, aumenta-se também a resposta analítica; porém, houve uma oscilação nas respostas. Foi aplicado o teste de análise múltipla de média de Duncan e concluído que não há diferença significativa entre as intensidades das medições no tempo entre um e cinco minutos ao nível de confiança de 95%, definindo-se em utilizar um minuto que é o menor tempo por análise, mesmo sabendo que ao aumentar o tempo diminui a variabilidade das medições.

Tabela 2 Avaliação da influência do tempo de incidência da radiação no material de referência para a linha $L\alpha$ do chumbo.

<i>Tempo</i>	<i>Resposta analítica, cps</i>
1 minuto	47,797 \pm 1,216
2 minutos	48,162 \pm 0,636
3 minutos	49,169 \pm 0,410
5 minutos	48,626 \pm 0,301

4.1.4 Análise Quantitativa em amostras de solo em pó

As curvas de calibração multielementar desenvolvidas são apresentadas na Figura 15. Para o cobre e o chumbo, as curvas de calibração obtiveram linearidades apropriadas, com valores de coeficientes de correlações superiores a 0,99, porém o cobalto apresentou uma linearidade menor, com um coeficiente de correlação de 0,964. Dois dos cinco elementos tiveram resposta analítica com correlação negativa conforme o aumento das concentrações. Com o aumento das concentrações de níquel e cromo, observa-se a diminuição da resposta analítica, consequência do fenômeno de absorção do sinal de emissão. Isso ocorre devido interferência interelementos (BOS; BOS; LINDEN, 1993) (SCHIMIDT; BUENO; PROPPI, 2002) (NAGATA; BUENO; PERALTA-ZAMORA, 2001). Essa

interferência ocorre entre elementos com números atômicos próximos. Sendo assim, foram desenvolvidas duas curvas de calibração multielementar, uma com Cr, Ni e Cu e a outra com Cr, Ni e Co. Os coeficientes de correlação acima de 0,990, comprovando que esses elementos não interferem entre si.

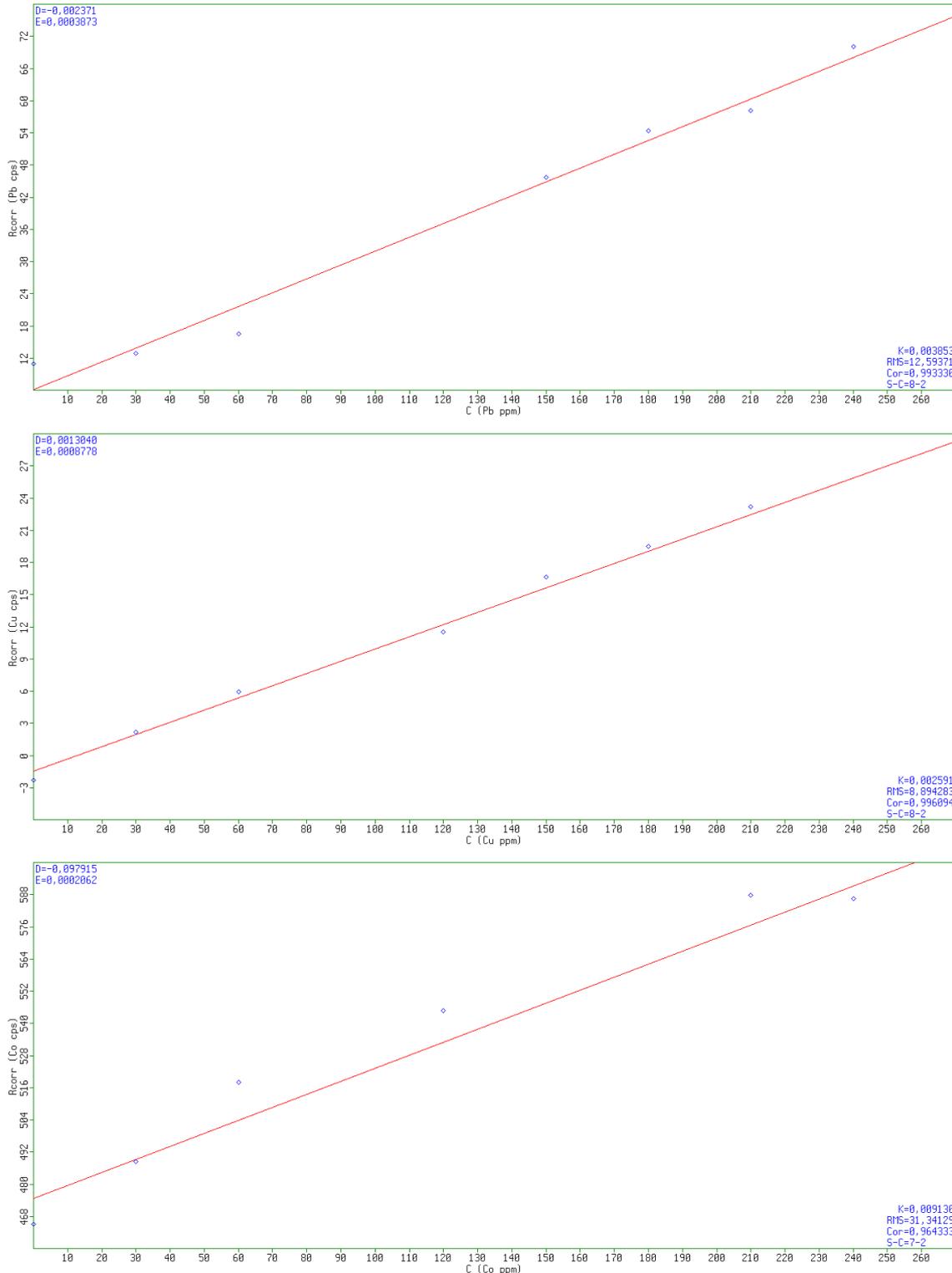


Figura 15 Curvas de calibração multielementar de Co, Cr, Cu, Ni e Pb, onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação

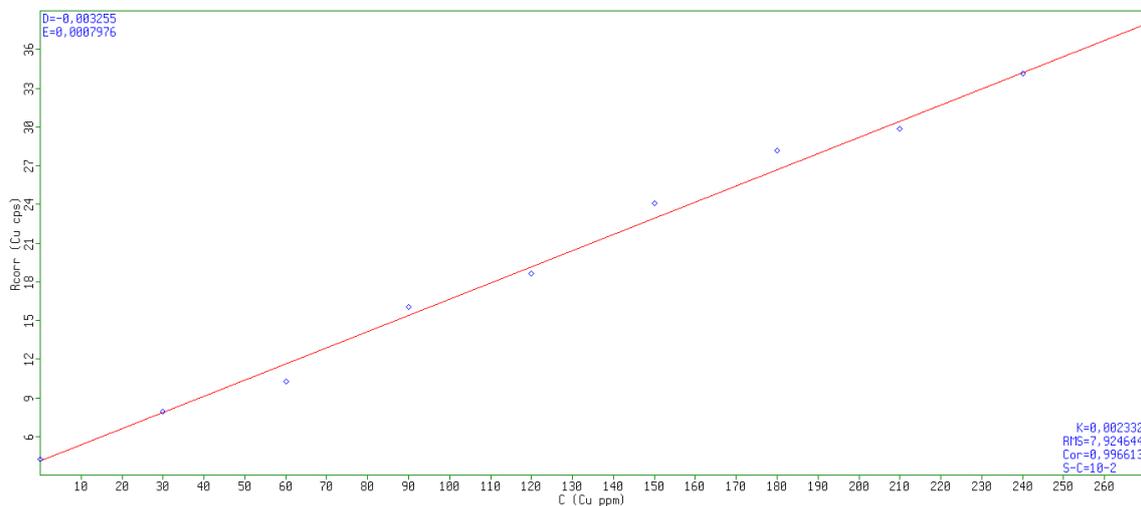
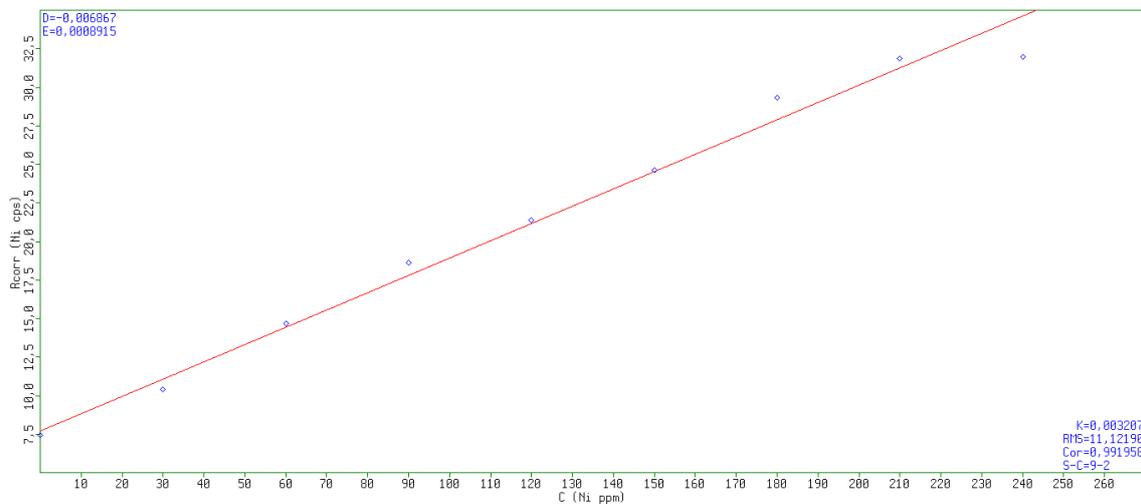
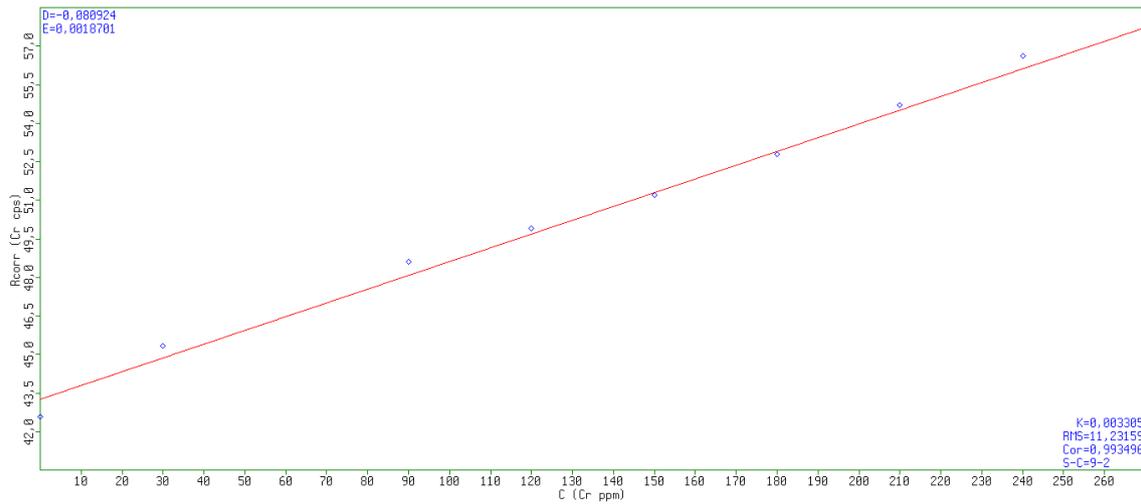


Figura 16 Estudo da interferência Interelementos Cr-Cu-Ni, onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação

Ao combinar o cobalto ao cromo e níquel (Figura 17), pode-se observar que a curva do cobalto apresenta coeficiente de correlação de 0,976. Para o níquel e o cromo foi observado novamente o comportamento decrescente na

linearidade das curvas de calibração, a correlação foi negativa, e principalmente para o cromo, os pontos da curva mostram-se extremamente desconexos entre si, comprovando que o cobalto é o elemento que promove o fenômeno de absorção de sinal, interferindo na quantificação de cromo e níquel por EDXRF.

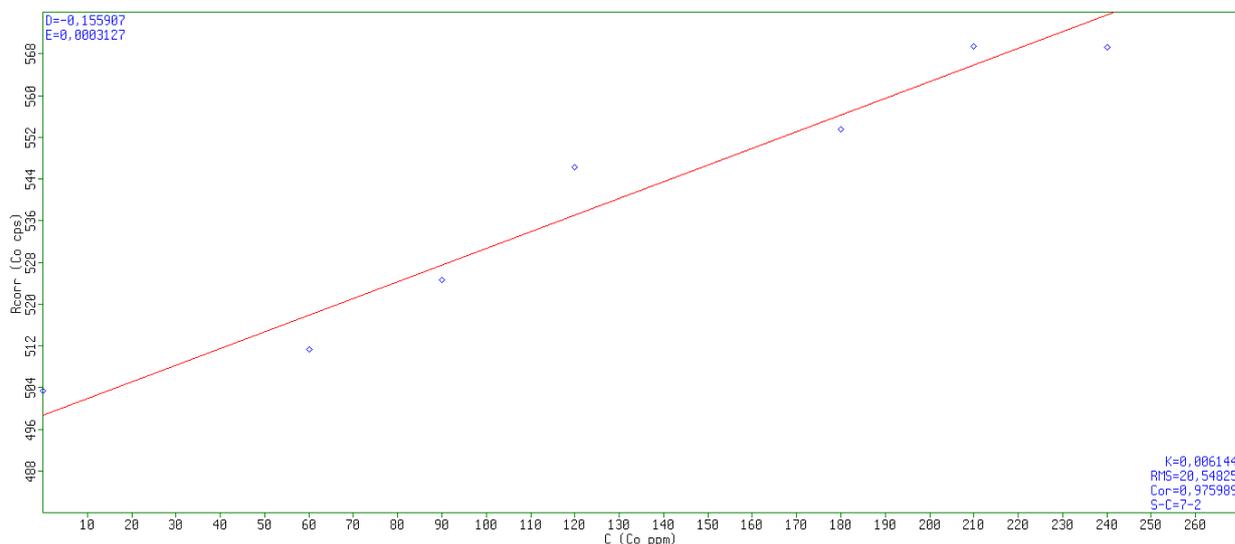
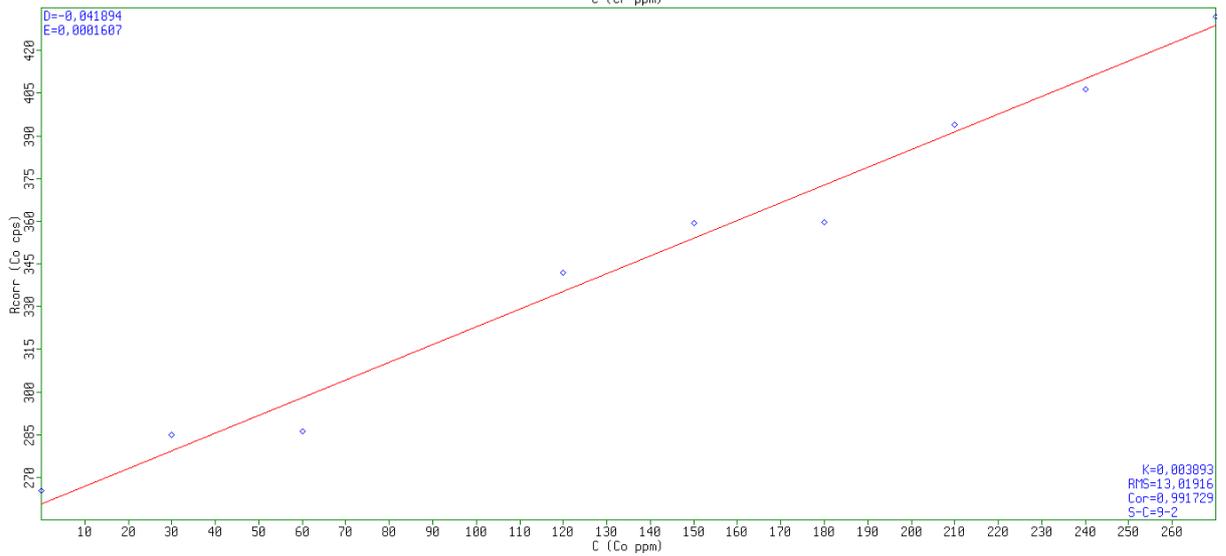
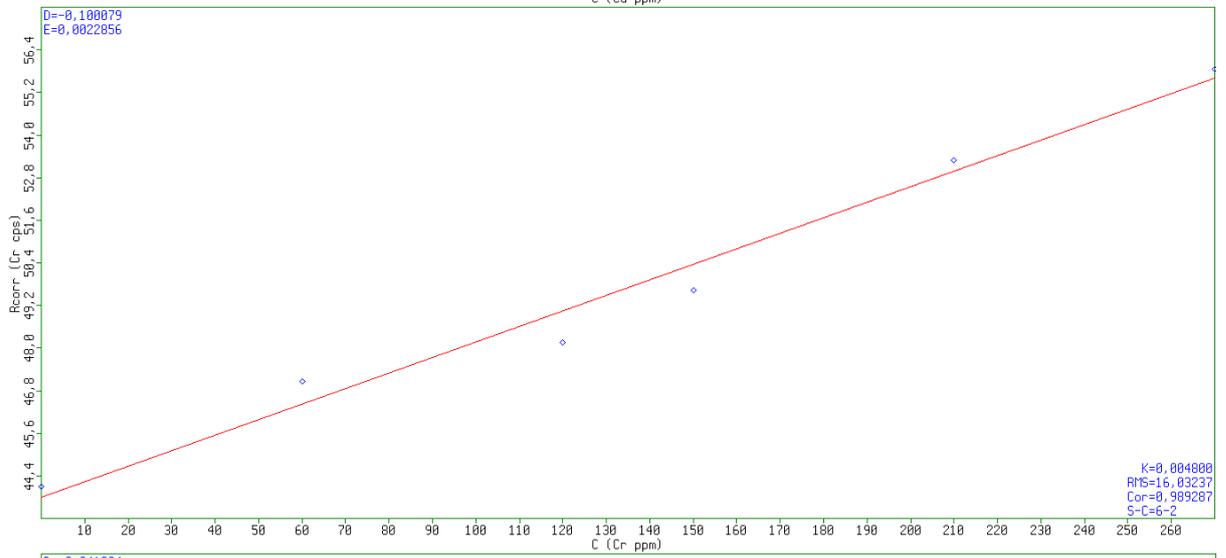
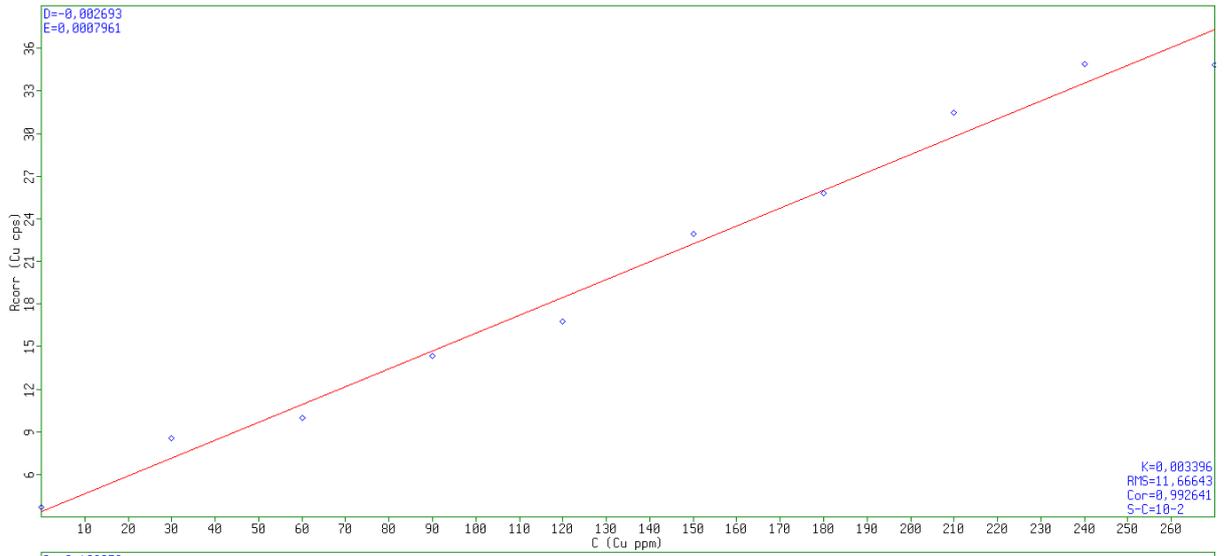


Figura 17 Estudo da interferência Interelementos Cr-Co-Ni, onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação

Considerando essa interferência, foram desenvolvidas as curvas de calibração do elemento Co separadas dos demais Cr, Cu, Ni e Pb (Figura 18). Pode-se observar que todas obtiveram coeficientes de correlação acima de 0,980. O cromo e níquel apresentaram os menores coeficientes de correlação dentre estes elementos, isto se deve a possível interferência entre Cr-Fe-Ni (CHRISTENSENT; PIND, 1981) (BOS; BOS; LINDEN, 1993), em tanto que o solo utilizado como controle apresentou uma quantidade de ferro na análise qualitativa que mostra uma expressiva quantidade de contagens por segundo.



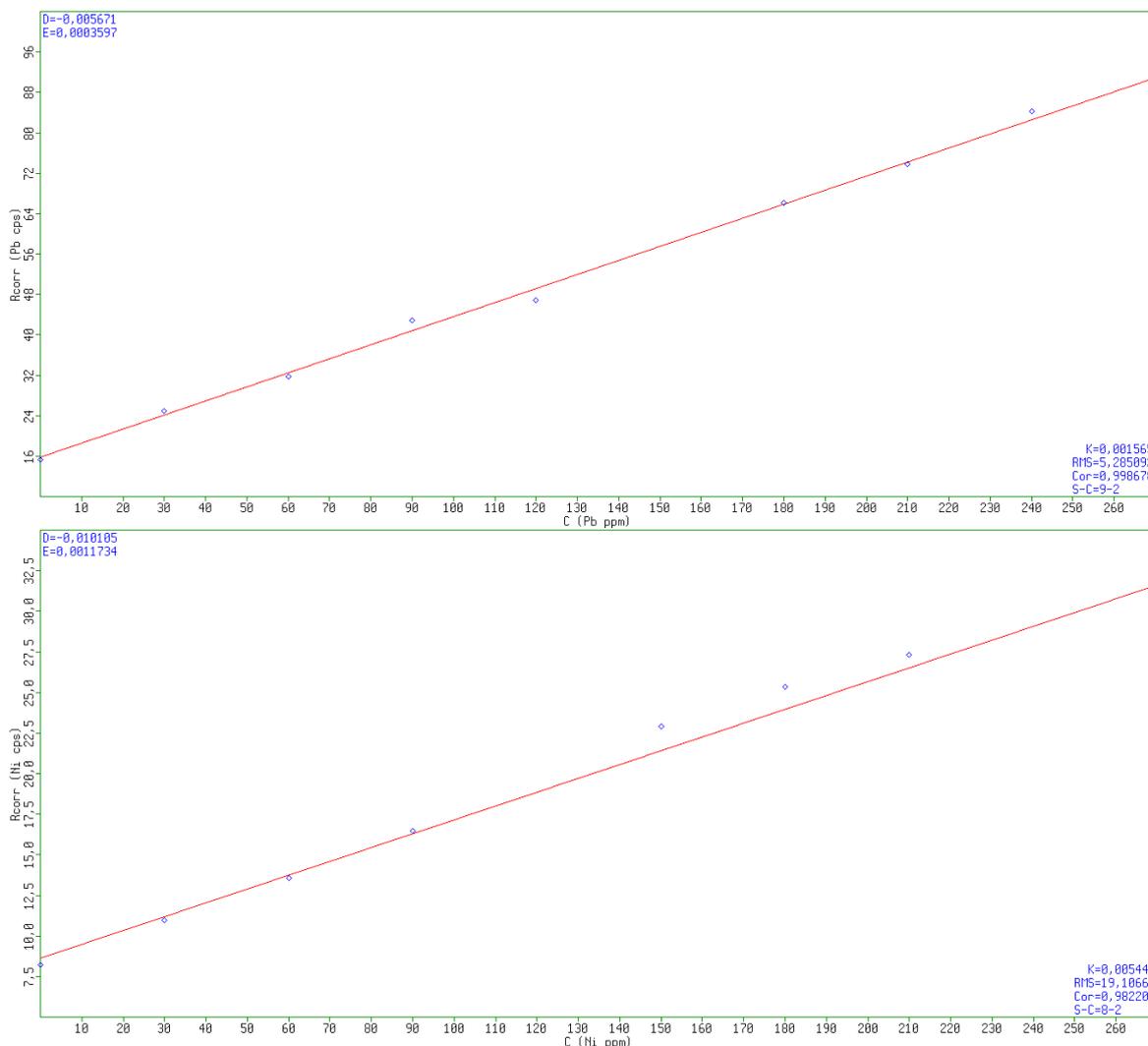


Figura 18 Curvas de calibração de solo de Cr, Cu, Ni e Pb e curva de calibração de Co, onde D é o intercepto (coeficiente linear), E a inclinação (coeficiente angular), K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação

Na Tabela 3 são mostradas as características analíticas obtidas das curvas de calibração de análise direta de solo. As condições analíticas permaneceram as mesmas desde o início do trabalho como descrita na metodologia. Como visto, os coeficientes de variação apresentam valores aceitáveis, sendo os maiores para o cromo e o níquel com medidas de 11,88 e 14,15 % respectivamente. O mesmo aconteceu com seus coeficientes de correlação. Concordando com a publicação de Bernick e colaboradores no ano de 1995, estes afirmam o alto limite de detecção obtido para o elemento cromo e experimentalmente verificado por Almeida et. al em 2011 que entre os analitos estudados, o limite de detecção do cromo foi o maior.

Observa-se que os interceptos encontraram-se próximos do zero. De acordo ao resultado do teste de Youden (MILLER, MILLER, 10), não existe diferença significativa do intercepto com a origem. Os limites de detecção, calculados de acordo com os critérios da IUPAC (THOMPSON; ELLISON e WOOD, 2002), apresentam valores altos, mas viáveis para quantificação dos elementos em mineração, solos contaminados, agrícolas, residenciais ou industriais em concentrações permissíveis pelo CONAMA 420/2009. Entretanto, fez-se necessário uma metodologia complementar de pré-concentração, para que seja possível a quantificação destes elementos quando presentes em concentrações abaixo dos limites de detecção desta primeira metodologia.

Tabela 3 Características analíticas da análise direta

	Co	Cr	Cu	Ni	Pb
Coefficiente de Correlação	0,9917	0,9893	0,9926	0,9822	0,9987
LD (mg kg⁻¹)	22,268	41,646	23,057	13,061	3,193
LQ (mg kg⁻¹)	74,228	138,821	76,857	43,537	10,643
Sensibilidade (cps/ppm)	0,622	0,0438	0,126	0,0852	0,278
Faixa linear (ppm)	74-270	139-270	77-270	44-270	11-270
Coefficiente de variação	9,64	11,88	8,64	14,15	3,91
Intercepto	-0,04189	-0,10008	-0,00269	-0,01011	-0,00567
Inclinação	0,000161	0,002286	0,000796	0,001173	0,00036

LD: Limite de detecção; LQ: Limite de quantificação;

4.2 Resultados da otimização do procedimento de pré-concentração para quantificação de metais por EDXRF

4.2.1 Intensidade de fluorescência (cps)

O conhecimento da intensidade de fluorescência na linha espectral correspondente ao elemento é necessário para saber se esses elementos são possíveis de serem determinados, nas condições previstas de trabalho, pela técnica analítica em estudo. Dessa forma, foi aplicada a metodologia desenvolvida por Santos (2016) e destinou-se à fase rica sobre um suporte de papel filtro. Analisou-se o suporte (papel filtro qualitativo (J Prolab)), o suporte com o solvente extrator, o branco e com padrões de 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ no espectrômetro EDXRF para avaliar se há interferência do solvente extrator e se os analitos apresentam intensidades crescentes ao aumentar a concentração deste.

Na Figura 19 mostram-se os resultados do estudo da intensidade de fluorescência do sinal analítico em contagens por segundo (cps). Pode-se observar que as intensidades são proporcionais às concentrações dos padrões, exceto para o Cr (VI) que não complexa quantitativamente com o TAC. Devido a isto, foi utilizado o padrão de Cr (III) para continuação do estudo. Com estes resultados, foi aplicado o teste t de "student" para comparar as médias do suporte puro e com adição do solvente extrator para cada elemento, e a partir disto pode-se inferir que o solvente extrator não interfere na análise devido o seu valor de intensidade não ter diferença significativa do valor da intensidade do suporte puro como mostra a Tabela 4 com um 95% de confiabilidade.

Tabela 4 Valores do teste t de "student" para comparar médias das intensidades do suporte com e sem solvente extrator, seguido o valor de t crítico, no qual t tabelado menor do que t crítico, não há diferença significativa.

	<i>Valor de T calculado</i>	<i>Valor de T tabelado (95%)(n-1)</i>
Cr	0,56	
Co	0,24	
Ni	0,28	4,31
Cu	0,27	
Pb	1,26	

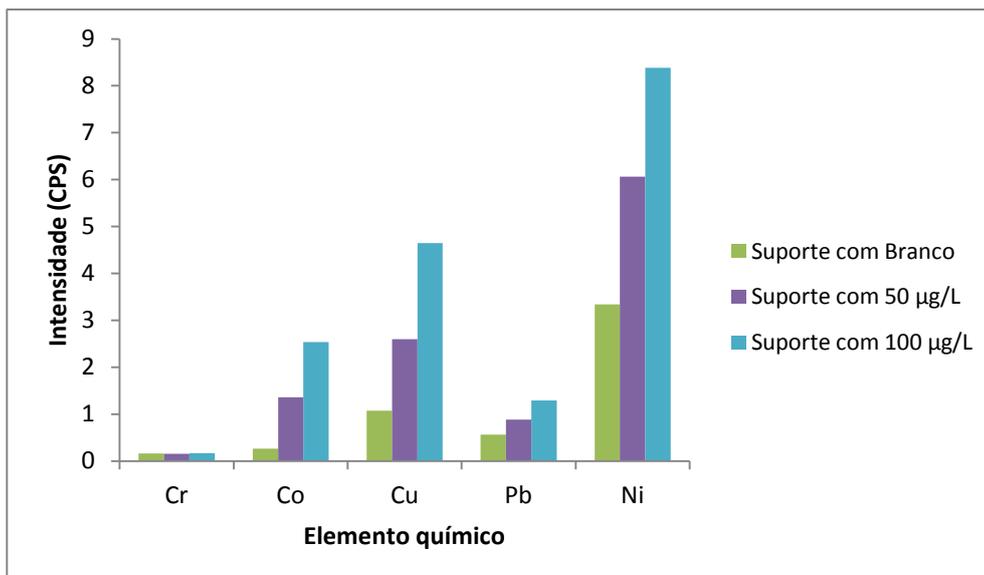


Figura 19 Estudo inicial da intensidade de fluorescência e viabilidade do estudo com os analitos

4.2.2 Seleção do suporte sólido

Para a seleção do suporte sólido (Figura 20), foi aplicado o teste estatístico de comparação múltipla de médias de Duncan e assim determinar os melhores suportes sólidos em questão, para quantificar os analitos, como destacados em vermelho na Tabela 20 em apêndice. Pode-se observar nas Tabelas de 21 a 25 (em apêndice) nos resultados do teste de Duncan, que para todos os elementos em estudo os melhores resultados foram obtidos com o suporte 3, seguido de algumas exceções que além deste suporte poderia ser utilizado outros. Finalmente, conclui-se em utilizar o suporte três (3), de fibra de vidro. Feito isso, foi aplicado um planejamento fatorial para verificar quais das variáveis devem ser otimizadas.

Até o momento, as referências encontradas que utilizam a técnica de EDXRF e o metodologia de DLLME utilizam o filtro Milipore. Para este trabalho, o filtro mais adequado foi o de fibra de vidro. Segundo Sitko e colaboradores (2011), o disco do suporte sólido deve se manter com uma área suficientemente pequena, caso contrário, só parte dos elementos será analisada.

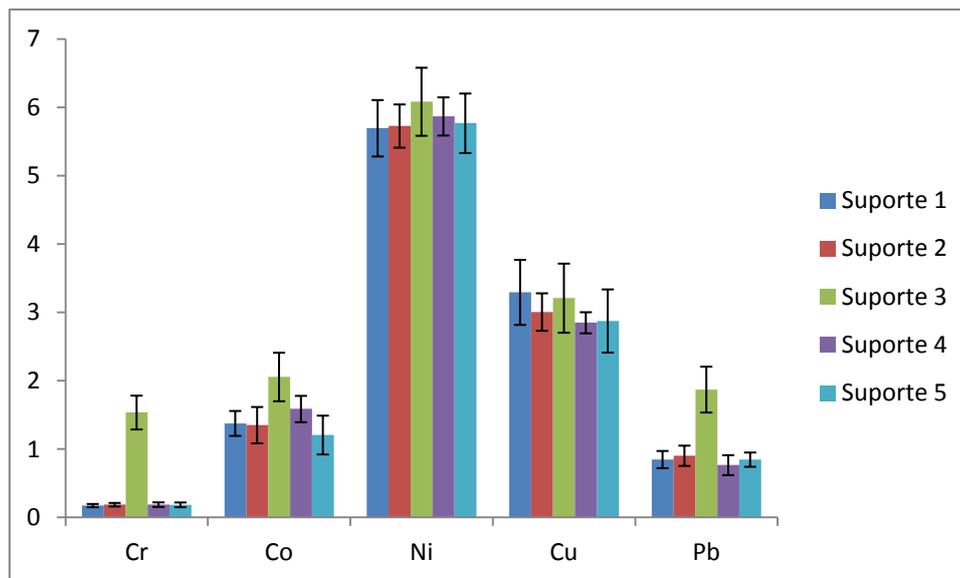


Figura 20 Avaliação do suporte sólido, n=3.

4.2.3 Planejamento Fatorial 2³

A Tabela 5 apresenta as respostas analíticas obtidas do planejamento fatorial 2³ e o desvio padrão das medidas.

Tabela 5 Intensidade de fluorescência do planejamento fatorial seguido do seu desvio padrão para os respectivos elementos com 3 graus de liberdade nas medições

Experimento	Cr (cps)	Co (cps)	Ni (cps)	Cu (cps)	Pb (cps)
1	1,549 ± 0,245	1,232 ± 0,312	5,359 ± 0,237	1,543 ± 0,102	1,373 ± 0,358
2	1,206 ± 0,056	1,501 ± 0,524	6,072 ± 0,364	2,951 ± 0,431	2,137 ± 0,251
3	1,376 ± 0,255	0,768 ± 0,080	4,465 ± 0,283	1,195 ± 0,540	1,429 ± 0,126
4	1,321 ± 0,135	0,857 ± 0,020	4,442 ± 0,296	1,423 ± 0,467	1,493 ± 0,346
5	1,765 ± 0,252	1,999 ± 0,380	6,857 ± 0,686	2,983 ± 0,518	1,505 ± 0,265
6	1,453 ± 0,065	1,674 ± 0,307	5,744 ± 0,093	2,758 ± 0,215	2,672 ± 0,230
7	1,531 ± 0,133	1,731 ± 0,302	7,040 ± 0,553	2,490 ± 0,308	1,760 ± 0,318
8	1,061 ± 0,244	1,981 ± 0,121	6,191 ± 0,291	3,188 ± 0,298	2,797 ± 0,079
Variância do erro puro	0,00076	0,0341	0,01248	0,09990	0,01824

Com estes resultados, executou-se o teste de Fisher (LUZARDO, 2001, cap. 15) desenvolvido com auxílio do pacote estatístico STATGRAPHICS.PLUS V.5.1, que resultou a não significância das variáveis para determinação de cromo

e cobalto. Para níquel e cobre, a variável significativa foi o solvente extrator com favorecimento ao nível alto. As variáveis significativas para Pb foram o pH e o solvente extrator ambos ao nível alto, como mostra na Tabela 6.

Tabela 6 Resumo das significâncias das variáveis

Cr	Co	Ni	Cu	Pb
N.S	N.S	B3(+0,697)	B3(+0,51)	B1(+0,379) e B3(+0,288)

N.S: Não houve variável significativa; B1: pH; B3: Solvente extrator; (+) ou (-): Os níveis de suas significâncias

Assim, conclui-se que para a otimização, deve-se fixar o pH em 8,5, pois do elemento em que o pH foi significativo, o nível alto é favorecido, fixar o solvente dispersor em 500 µL para menor gasto de reagente, e desenvolver a otimização univariada do solvente extrator que foi a variável significativa favorecendo o nível mais alto a partir de 50 µL.

4.2.4 Otimização do solvente extrator

Para a otimização do solvente extrator, foi executado o procedimento de microextração líquido-líquido dispersiva como descrito anteriormente, e no momento da injeção da mistura binária, foram variados os volumes de solvente extrator com 50, 60, 70, 80 e 90 µL. Todos os experimentos foram executados em triplicata. Nas Figuras 21, 22, 23, 24 e 25 são apresentados os gráficos com as respostas analíticas e os desvios padrão de cada ponto para cada elemento. Pode-se observar que os gráficos apresentam uma região de máximo próxima em sessenta microlitros. Dos resultados foram desenvolvidas análises de regressão não linear, com o pacote estatístico Curve Expert Professional, cujas equações são mostradas na Tabela 7.

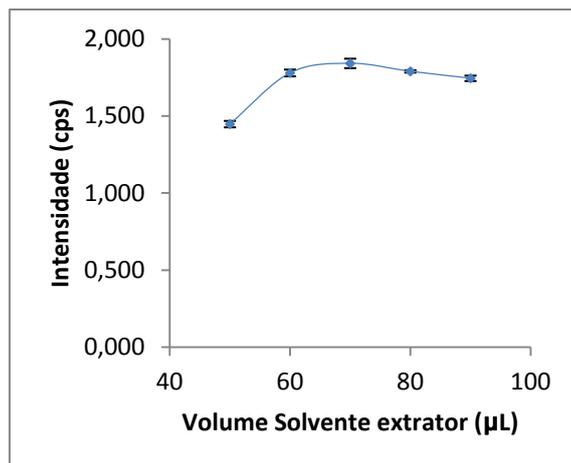


Figura 21 Variação da intensidade do sinal com o aumento do solvente extrator para Cr

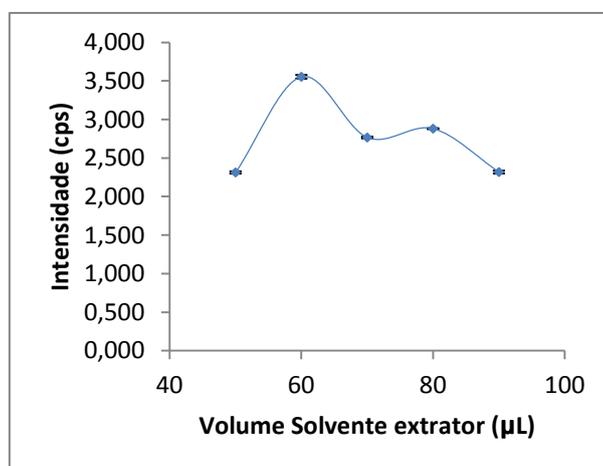


Figura 22 Variação da intensidade do sinal com o aumento do solvente extrator para Co

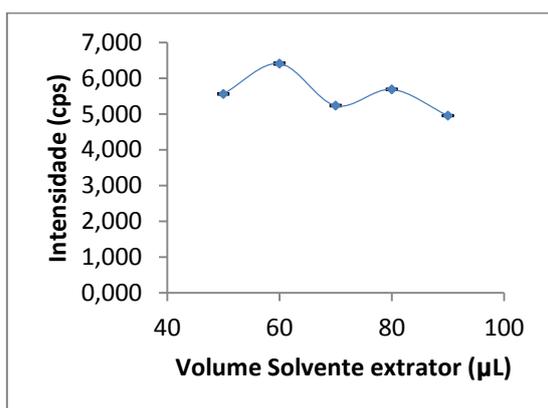


Figura 23 Variação da intensidade do sinal com o aumento do solvente extrator para Ni

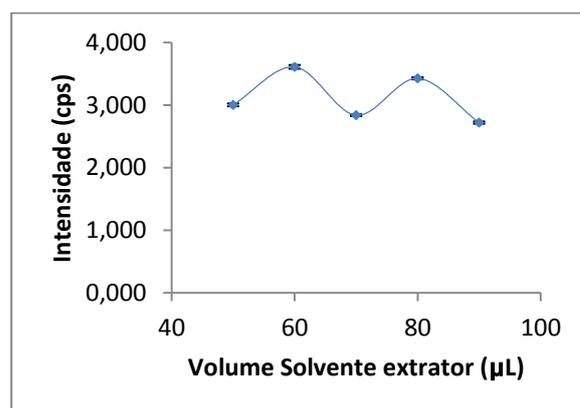


Figura 24 Variação da intensidade do sinal com o aumento do solvente extrator para Cu

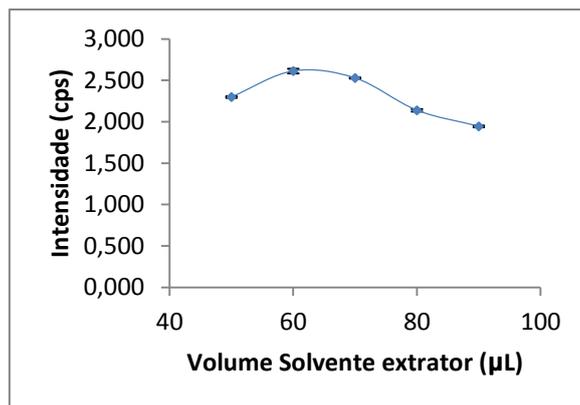


Figura 25 Variação da intensidade do sinal com o aumento do solvente extrator para Pb

Tabela 7 Modelos de regressão não linear dos elementos e suas correlações

Elemento	Equação	Correlação (r^2)
Cr	$V = \frac{-4,633 \cdot 10^6 + 1,207 \cdot 10^5 r}{1 + (-6,394 \cdot 10^3 r) + 5,143 \cdot 10^2 r^2}$	0,996
Co	$V = \frac{-2,203 \cdot 10^7 + 4,414 \cdot 10^5 r}{1 + (-1,038 \cdot 10^5 r) + 2,084 \cdot 10^3 r^2}$	0,8819
Ni	$V = 5,649 + 3,991 \cdot 10^{-1} \cos(3,142 \cdot 10^{-1} r + 8,882 \cdot 10^{-16})$	0,9027
Cu	$V = 3,186 + 3,324 \cdot 10^{-1} \cos(3,142 \cdot 10^{-1} r + 8,882 \cdot 10^{-16})$	0,9027
Pb	$V = 2,291 + 3,472 \cdot 10^{-1} \cos(1,190 \cdot 10^{-1} r + (-1,219))$	0,9999

V: volume; r: resposta analítica (cps)

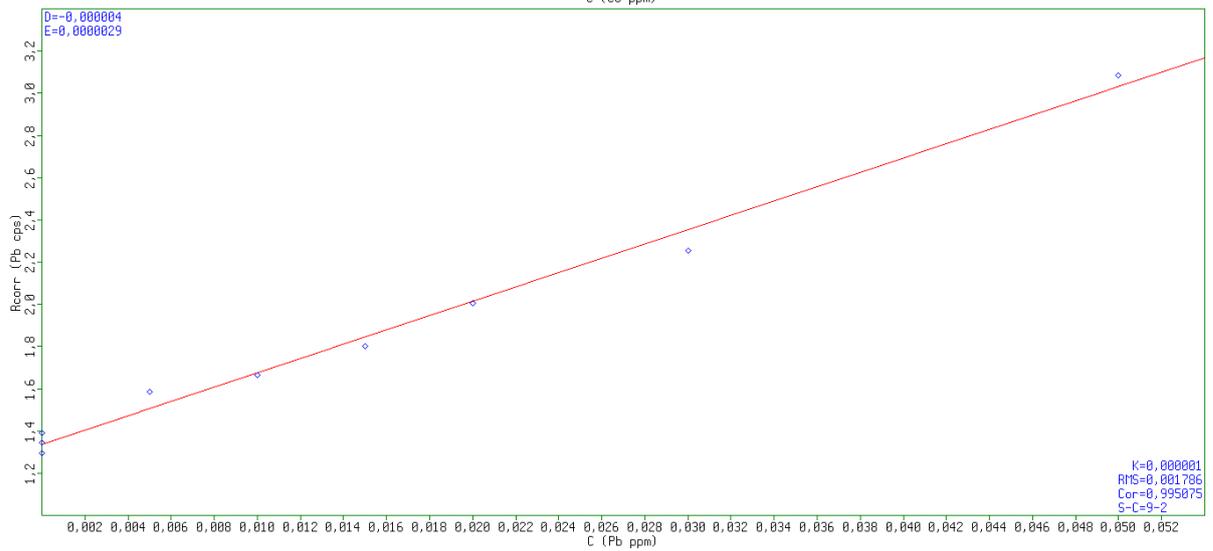
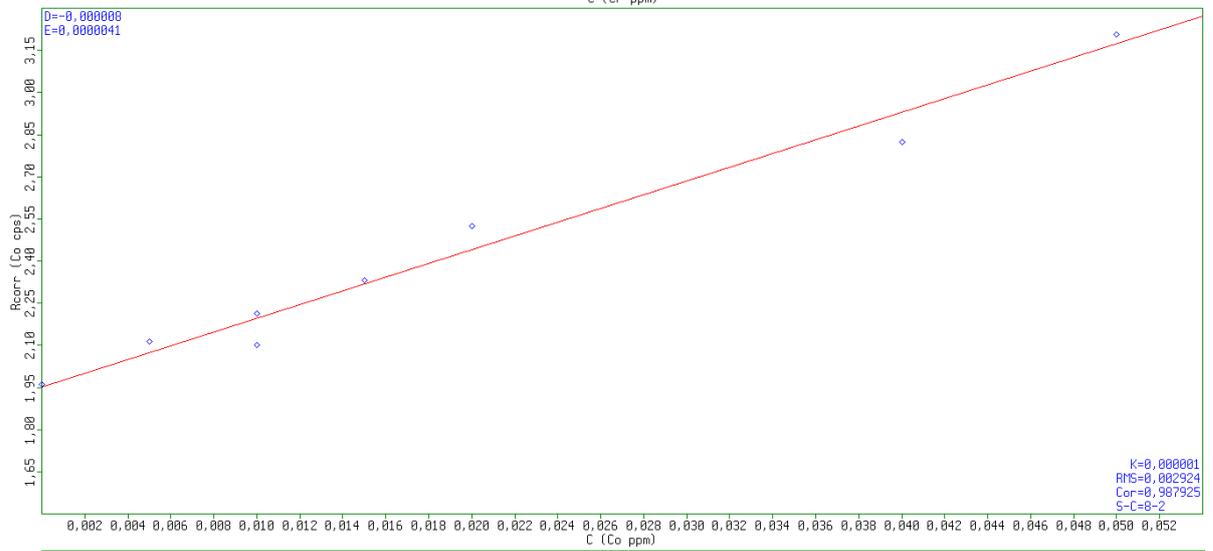
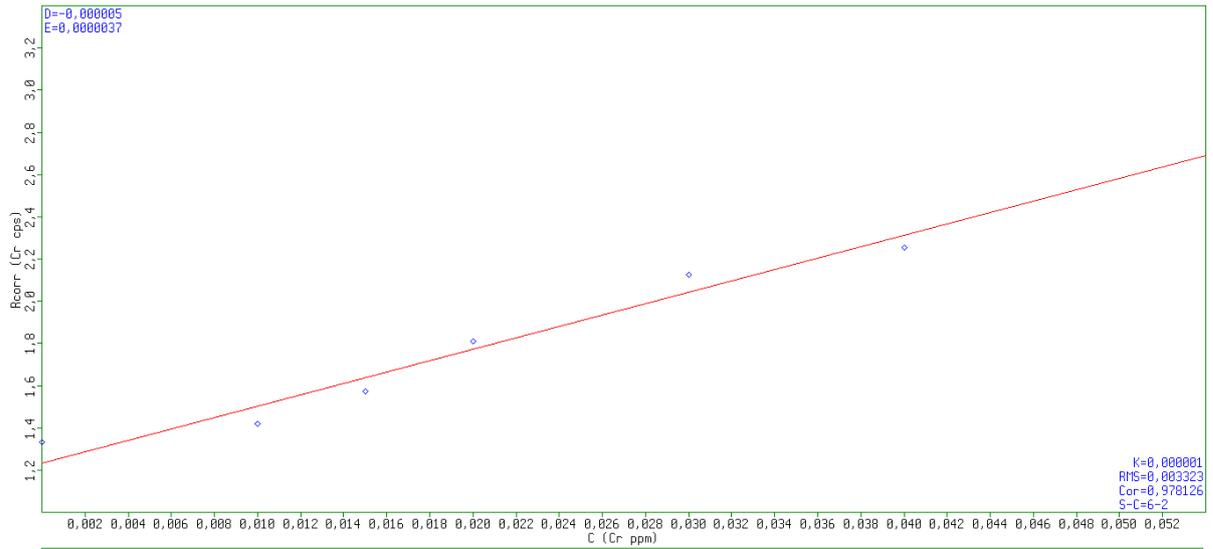
Para confirmar o valor ótimo, calculou-se a primeira derivada nestas equações, e obteve-se o valor do extremo que logo permitiu calcular o volume do solvente extrator em que apresentou o máximo de contagens por segundo para cada elemento. Pode-se observar na Tabela 8 que os volumes encontrados como ótimo são diferentes para cada elemento embora com valores muito próximos. Devendo definir um volume que favoreça a extração de todos os elementos concomitantemente, foram calculadas as médias aritmética e geométrica dos valores ótimos. Com base no princípio da desejabilidade global (GIORDANO et. al., 2013), foi escolhido o volume de 60 µL como volume

ótimo de solvente extrator para a pré-concentração dos elementos metálicos estudados.

Tabela 8 Volume referente à máxima intensidade de fluorescência para cada elemento em questão

Volumes de máximo obtidos pelos modelos	
Cr	69,70
Co	52,16
Ni	58,01
Cu	58,17
Pb	63,02
Média aritmética	60,21
Média geométrica	59,93

Com as variáveis otimizadas, desenvolveu-se as curvas de calibração da metodologia de pré-concentração que ficam salvas no software do equipamento (Figura 26).



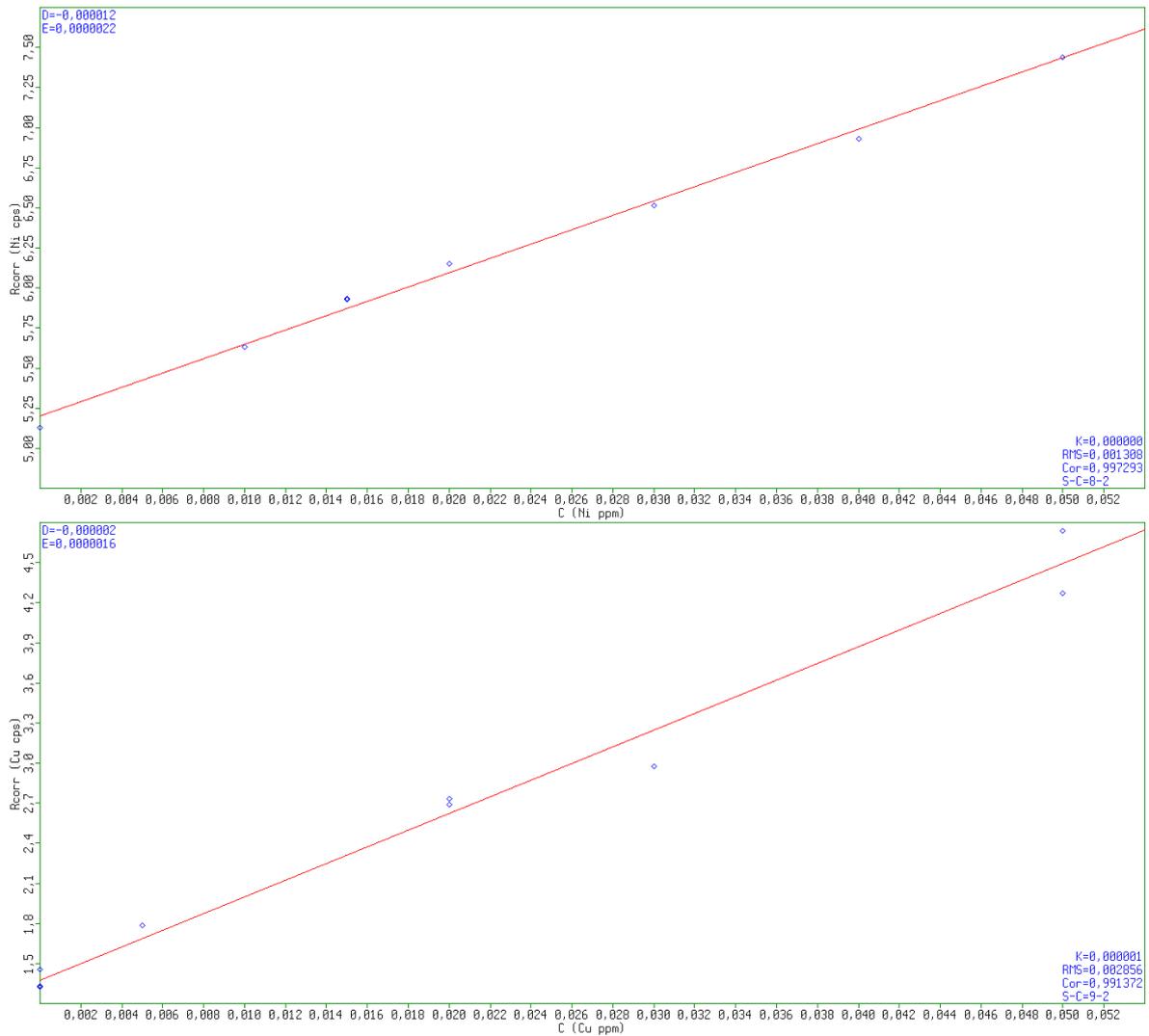


Figura 26 Curvas de calibração da metodologia de pré-concentração, onde D é o intercepto, E a inclinação, K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S número de amostras, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação

4.2.5 Estudo de interferentes

O estudo dos interferentes foi feito adicionando individualmente um possível interferente frente aos analitos e submetidos à metodologia desenvolvida, os resultados estão apresentados na Tabela 9.

Para verificar-se se houve interferência entre os elementos na determinação dos analitos, foi feito o teste t de student entre o experimento com interferente e o experimento sem interferente em limites de relação 1:10 e 1:100 (volume de analito: volume de interferente). Como visto na Tabela 9, elementos como Co e Cu sofrem interferência do zinco em concentração de 10 vezes o interferente, como na mesma proporção o cádmio interfere na análise do níquel.

Tabela 9 Limites máximo de íons interferentes na determinação de Cr, Co, Ni, Cu e Pb na concentração de 50 µg L⁻¹.

Íon	Analito				
	Cr	Co	Ni	Cu	Pb
Mg²⁺	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
Mn²⁺	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
Fe³⁺	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
Zn²⁺	1:100	<u>1:10</u>	1:100	<u>1:10</u>	1:100
Cd²⁺	1:100	1:100	<u>1:10</u>	1:100	1:100
Al³⁺	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
Ca²⁺	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100

Proporção de analito:interferente, ex: 1(Cr) para 100(Mn)

4.2.6 Validação

Para validar internamente a metodologia, foi desenvolvido o procedimento com todos os parâmetros otimizados de acordo com a Tabela 10.

Tabela 10 Condições do procedimento de microextração para os experimentos

Analitos	Cr(III), Co(II), Cu(II), Pb(II) e Ni(II)
Concentração dos analitos ($\mu\text{g L}^{-1}$)	50
1 mL de Tampão	Borato (8,5)
Volume de complexante (μL)	500 ± 5
Volume do solvente dispersor (μL)	500 ± 5
Volume do solvente extrator (μL)	$60 \pm 1,5$
Volume recolhido (fase rica) (μL)	$40 \pm 0,8$
Aquecimento	$87 \pm 10^\circ\text{C}$
Suporte para análise por EDXRF	Suporte 3 – Microfiltro Fibra de vidro GF-3 Macherey-Nagel

Foram efetuadas 4 repetições do procedimento metodológico, para sua validação expressando a média, desvio padrão e coeficiente de variação na Tabela 11. Observa-se que o coeficiente de variação para o cobalto é o maior comparado com os outros elementos, possivelmente devido à interferência entre elementos confirmada neste trabalho, porém menos acentuada devido à menor concentração.

Tabela 11 Valores de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) obtidos nas análises para avaliação da precisão.

	Cr	Co	Ni	Cu	Pb
BRANCO	1,578	1,74	4,066	1,282	1,505
Replicata	1,646	3,074	5,380	3,348	2,789
Replicata	1,715	3,159	5,135	3,191	2,368
Replicata	1,810	2,610	6,139	3,278	2,814
Replicata	1,998	3,425	6,080	3,273	2,982
Média	1,792	3,067	5,683	3,272	2,738
Desvio	0,153	0,339	0,502	0,064	0,261
Coeficiente de variação (%)	8,523	11,065	8,842	1,962	9,542

Para validar os valores ótimos da metodologia, foi aplicado o teste T de student, e verificou-se que não houve diferença significativa entre os valores do experimento e o valor predito pelos modelos matemáticos, pelo fato dos valores de T calculado serem menores do que o T tabelado em níveis de confiança de 95%, apresentado na Tabela 12.

Tabela 12: Resultados da validação comparando o valor experimental como valor obtido do modelo com 95% de confiabilidade.

Elemento	Valor predito pelo modelo	Valor do experimento	T calculado	T tabelado (95%)(n-1)
Cr ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,793	1,837	0,594	
Co ($\mu\text{g L}^{-1}$)	3,495	3,223	1,337	
Ni ($\mu\text{g L}^{-1}$)	6,048	5,899	0,517	3,18
Cu ($\mu\text{g L}^{-1}$)	3,518	3,571	0,175	
Pb ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,616	2,807	1,563	

Como não houve diferença significativa entre o valor predito pelo modelo e o valor do experimento, segundo o teste estatístico aplicado, tem-se então avaliada a exatidão da metodologia de microextração líquido-líquido para quantificação de Cr, Co, Cu, Ni e Pb por Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva.

4.2.7 Características analíticas

A Tabela 13 contém as características analíticas da metodologia de pré-concentração desenvolvida. Uma curva de calibração, sem pré-concentração, com adição direta de padrão no suporte sólido (figura 33 em apêndice), foi feita com o objetivo de calcular o fator de enriquecimento.

Podem-se observar na Tabela 13, que os valores de coeficientes de correlação estão acima de 0,98 e as sensibilidades são representativas. Os fatores de pré-concentração são altos, os coeficientes de variação estão abaixo de 16,62%, valor aceitável devido à sequência de operações realizadas para obter o produto final da metodologia. De acordo com o teste de Youden não há diferença significativa entre o intercepto e a origem do gráfico. Os limites de detecção alcançados são valores muito baixos, podendo acrescentar

esta técnica analítica em determinação de metais traço em diversas amostras ambientais.

Tabela 13 Características analíticas da metodologia de pré-concentração

	Co	Cr	Cu	Ni	Pb
Ceficiente de Correlação	0,9879	0,9781	0,9914	0,9973	0,9951
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,957	1,647	0,551	3,809	0,982
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	6,52	5,48	1,84	12,68	3,27
Sensibilidade (cps/ppm)	24,5	27,0	62,5	44,7	33,9
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	6,52 –50,0	5,48- 40,0	1,84-50,0	12,68-50,0	3,27-50,0
Coefficiente de Variação (%)	11,7	16,62	11,42	5,23	7,14
Intercepto	-0,00001	0	0	-0,00001	0
Inclinação	0,000004	0,000004	0,000002	0,000002	0,000003
FE	58	158	90	69	78

LD: Limite de detecção; LQ: Limite de quantificação; FE: Fator de Enriquecimento

Da revisão de literatura realizada, foram encontrados três trabalhos com a combinação DLLME-EDXRF (Tabela 14) e um DLLME-TXRF. Todas as metodologias desenvolvidas foram aplicadas em água e o suporte sólido foi filtro Milipore. Neste trabalho, o suporte foi de fibra de vidro com aplicação em amostra de solo. Os fatores de pré-concentração apresentadas pelos autores, foram FE teóricos, diferente deste trabalho que o fator de enriquecimento experimental, o qual foi calculado pela divisão das sensibilidades de uma curva sem pré-concentração e a pré-concentrada.

Os limites de detecção da metodologia desenvolvida são equivalentes ou maiores do que os LD dos trabalhos anteriores, como por exemplo, o cobre no presente trabalho obteve LD de $0,55 \text{ ng mL}^{-1}$, valor menor do que o obtido por Pytlakowska e Sitko em 2013, $1,7 \text{ ng mL}^{-1}$. O mesmo aconteceu com o

chumbo, Kocot, Zawisza e Sitko em 2012 alcançaram LD de $3,9 \text{ ng mL}^{-1}$ e neste trabalho o valor obtido foi menor, equivalente a $0,98 \text{ ng mL}^{-1}$.

Tabela 14 Comparação de trabalhos com a combinação das técnicas de fluorescência de raios-x e a metodologia de DLLME

Técnica	Amostra	Analitos	Metodologia	Limite de detecção	Fator de pré-concentração	Referência	Suporte para introdução da amostra em FRX
EDXRF	Água	Zn e Cu	DLLME	1,8 e 1,7 ng mL ⁻¹	250	(PYTLAKOWSKA; SITKO, 2013)	Filtro Millipore
EDXRF	Água	Fe, Co, Zn, Ga, Se e Pb	DLLME	2,8; 1,6; 2,5; 1,7; 2,1 e 4,1 ng mL ⁻¹	250	(SITKO, et. al., 2011)	Filtro Millipore
EDXRF	Água	Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se e Pb	DLLME	2,9; 1,5; 2,0; 2,3; 2,5; 2,0 e 3,9 ng mL ⁻¹	250	(KOCOT; ZAWISZA; SITKO, 2012)	Filtro Millipore
EDXRF	Solo	Co, Cr, Cu, Ni e Pb	DLLME	1,96; 1,65; 0,55; 3,81 e 0,98 ng mL ⁻¹ *0,245; *0,206; *0,069; *0,476 e *0,122 µg g ⁻¹	58, 158, 90, 69 e 78	Este trabalho	Fibra de vidro

*Considerando 0,2 gramas de amostra e 25 mL de solução digerida

5.0 METODOLOGIA INTEGRADA PARA DETERMINAÇÃO DE SOLO POR EDXRF

Para a determinação de Cr, Co, Cu, Ni e Pb em solo com o Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva, aplicando a metodologia combinada desenvolvida neste trabalho, a amostra deve ser seca em estufa por 4 horas a (103 ± 2) °C, peneirada com abertura de 170 mesh, pesada 2,0 gramas e adicionada no suporte para a análise por EDXRF utilizando o filtro <Ni-Ag>, com incidência da radiação por 60 segundos. Posteriormente, deve-se fazer a análise qualitativa, se houver grandes concentrações de cobalto, impossibilita a quantificação de Cr e Ni. É analisado primeiramente o Co e logo depois os demais metais. Caso todos tiverem respostas em concentrações acima dos limites de quantificação, então tem-se o resultado final, caso contrário, deve-se aplicar a metodologia de microextração líquido-líquido dispersiva utilizando-se 5,0 mL de amostra, 1,0 mL de tampão borato em pH 8,5, 0,5 mL do complexante TAC 0,1%(m/v), 500 µL do metanol (solvente dispersor), 60 µL do solvente extrator (tricloroetileno). Após a centrifugação recolhe-se 40 µL da fase rica e deposita-se no suporte sólido de fibra de vidro com diâmetro de 4 mm e mede-se nas curvas validadas. Assim apresenta-se uma metodologia completa com confiabilidade e validade, apresentada também na forma de fluxograma na Figura 27, para quantificação destes metais em amostras de solo. É possível aplicar a metodologia de pré-concentração também em outras matrizes para o qual deveria se validar com cada matriz. A Tabela 15 apresenta as características analíticas das metodologias que mostra a aplicabilidade da Espectrometria de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva para análise em concentrações traço.

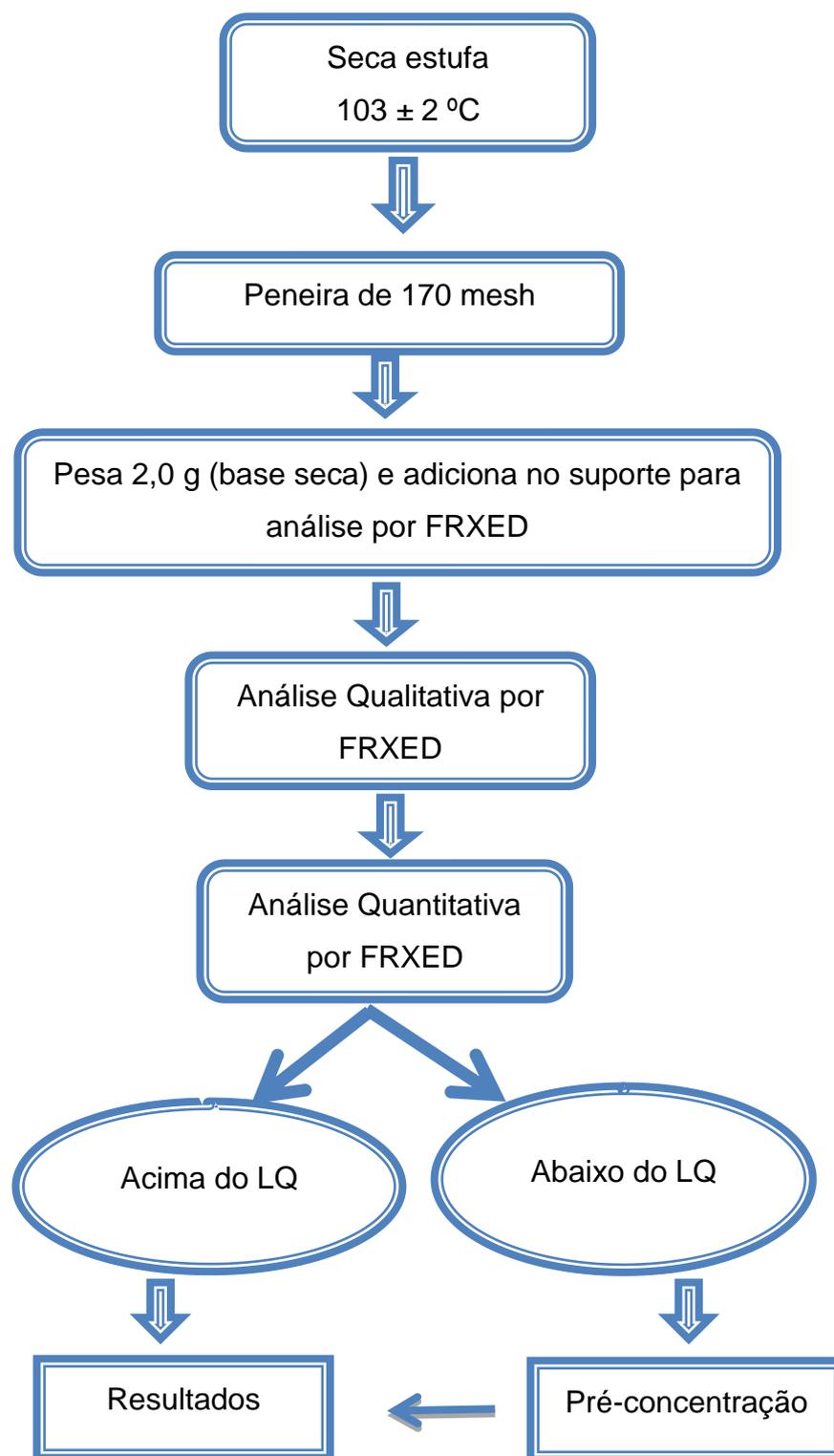


Figura 27 Fluxograma da metodologia combinada para quantificação de Cr, Co, Cu, Ni e Pb em solo

Como visto na Tabela 15, a metodologia de pré-concentração possibilitou diminuir quantitativamente os limites de detecção para esses elementos, e possibilitou a maior aplicação deste excelente equipamento ainda pouco utilizado em Química Analítica para análise de elementos traço.

Tabela 15 Tabela com características analíticas das metodologias de análise direta e pré-concentração

	Co	Cr	Cu	Ni	Pb
LD (mg kg⁻¹) (AD)	22,27	41,65	23,06	13,06	3,19
LD (mg kg⁻¹) (PC)	0,245	0,206	0,069	0,476	0,122
Sensibilidade (cps/ppm) (AD)	0,622	0,0438	0,126	0,0852	0,278
Sensibilidade (cps/ppm) (PC)	24,5	27,0	62,5	44,7	33,9
Faixa linear (mg kg⁻¹)(AD)	74 - 270	139 - 270	77 - 270	44 - 270	11 - 270
Faixa linear (mg kg⁻¹) (PC)	0,245– 6,25	0,206-6,25	0,069-6,25	0,476-6,25	0,278-6,25

AD: análise direta; PC: pré-concentração; LD: Limite de detecção; LQ: Limite de quantificação

6.0 APLICAÇÃO DAS METODOLOGIAS

Encontram-se abaixo aplicações de amostras de solo na metodologia direta. Amostras, que apresentaram valores abaixo do limite de quantificação definida com confiabilidade pela metodologia, foram submetidas à digestão e aplicação da metodologia de pré-concentração.

6.1 Análise qualitativa

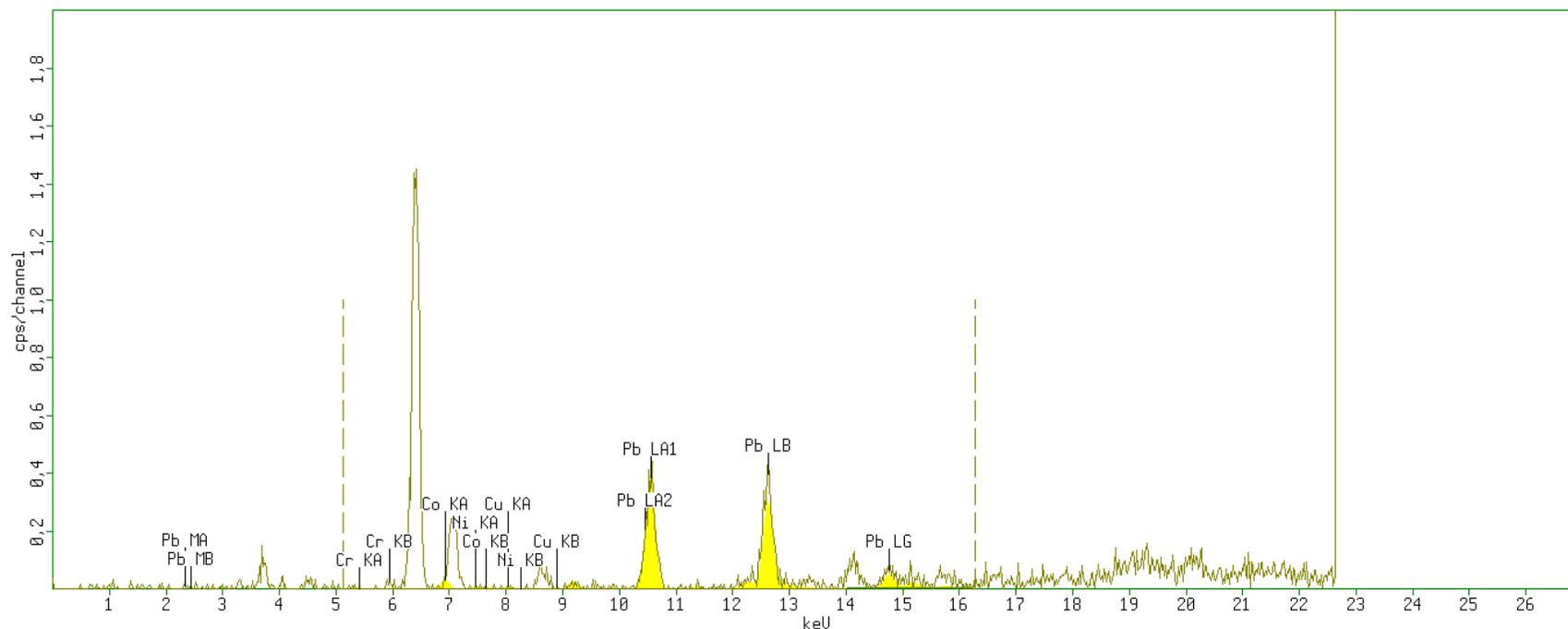


Figura 28 Espectro qualitativo da amostra AR2-0-5 analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos

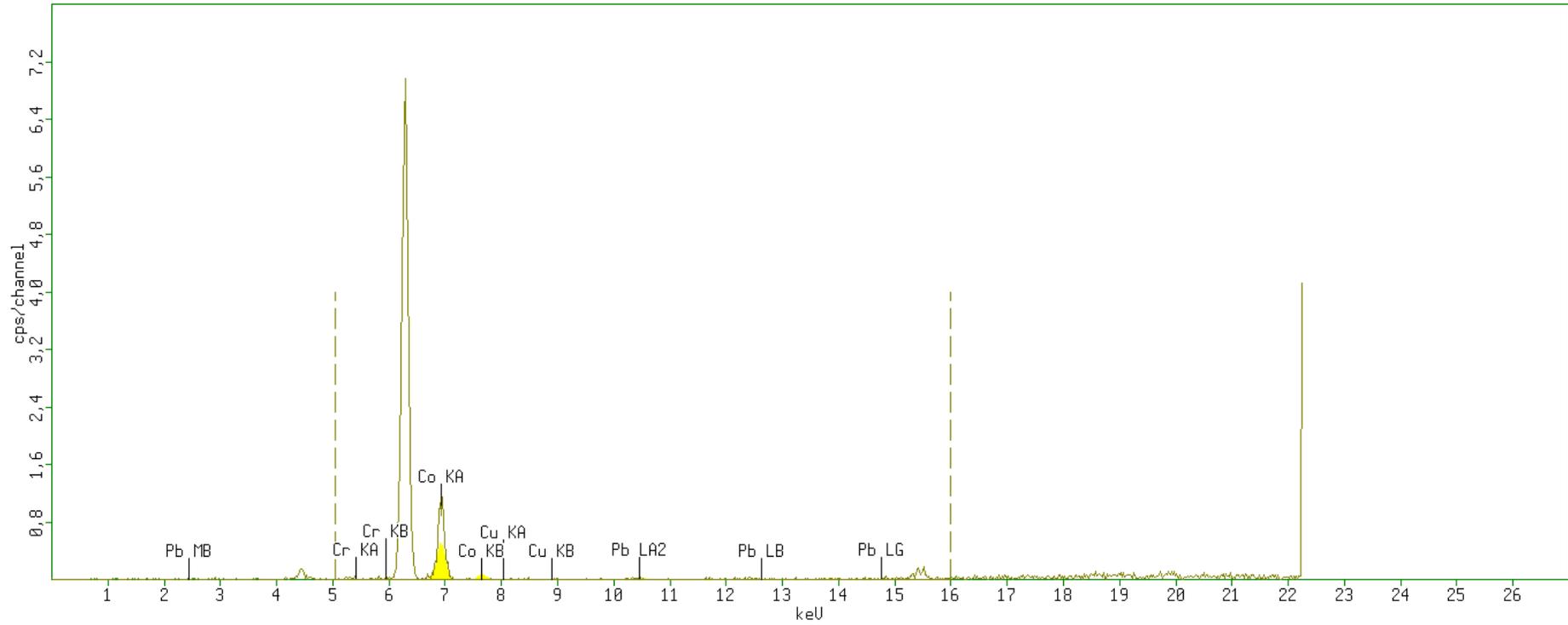


Figura 29 Espectro qualitativo da amostra L180Pb analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos

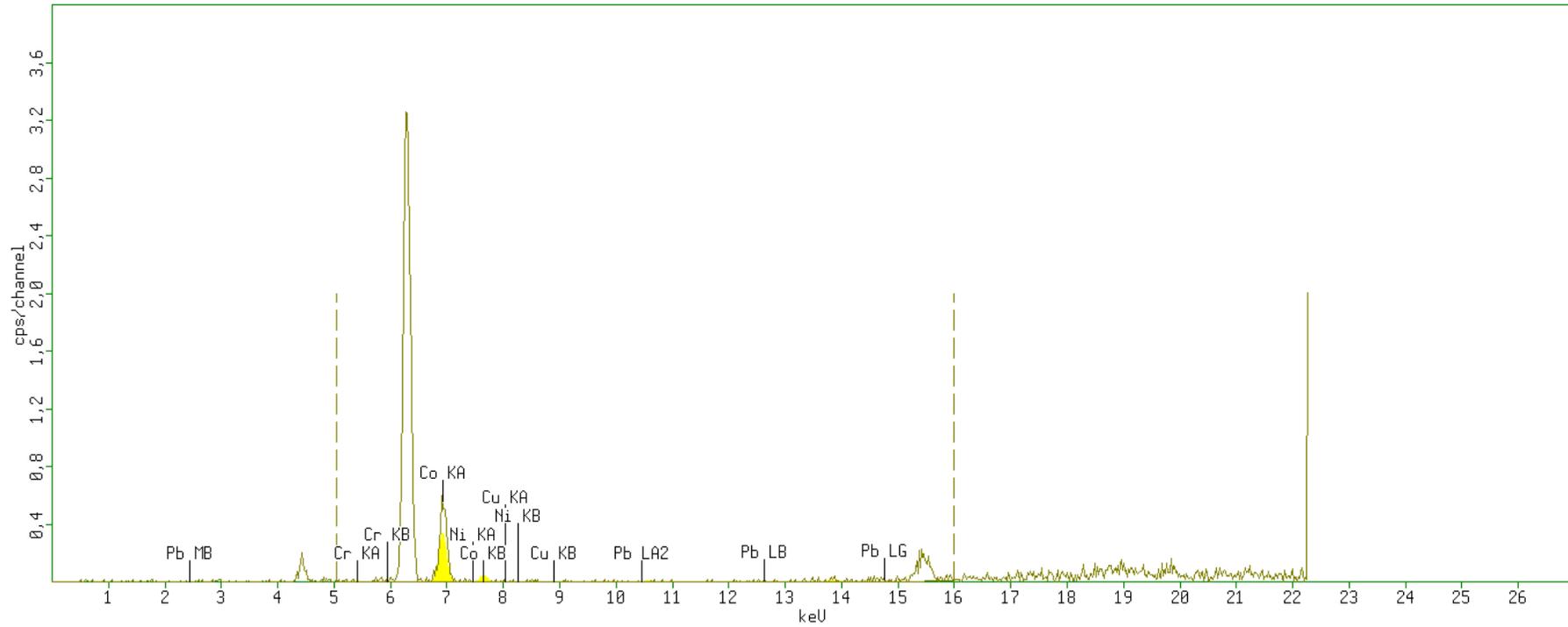


Figura 30 Espectro qualitativo da amostra CTR-AA-001 analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos

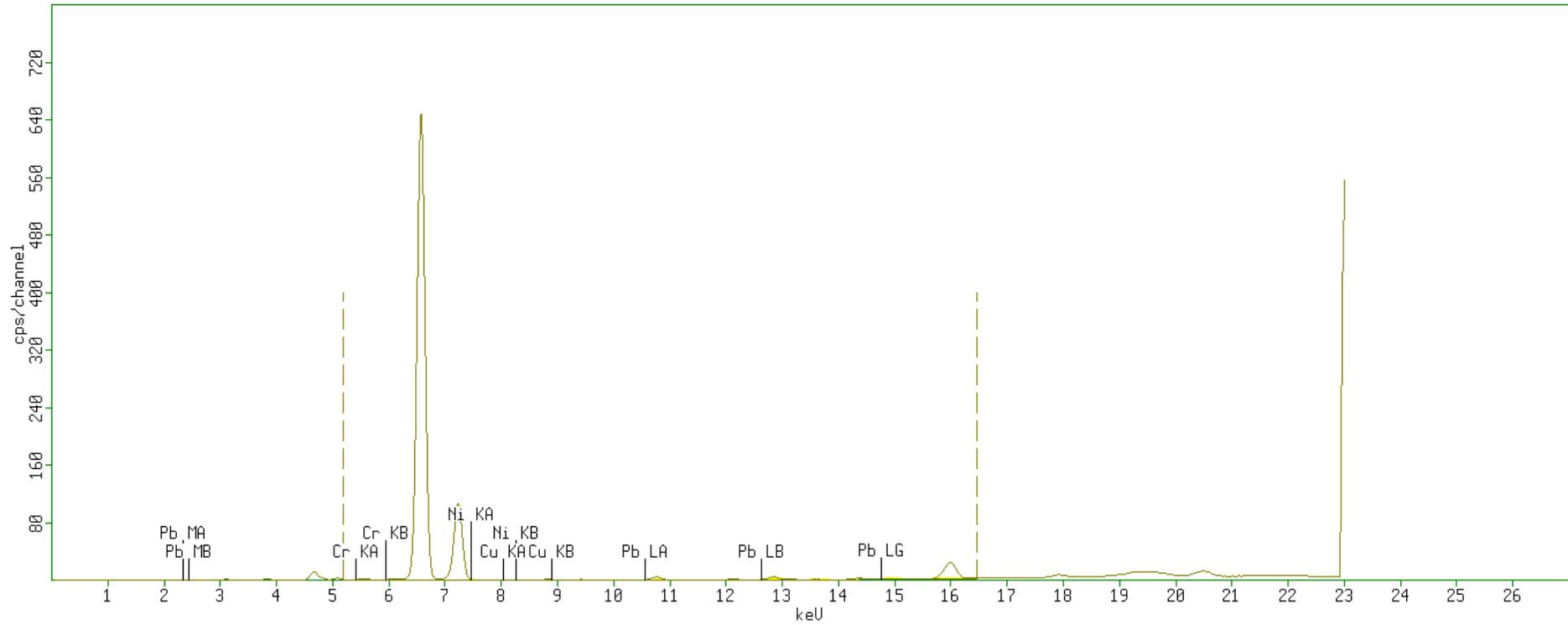


Figura 31 Espectro qualitativo da amostra L105Ni analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos

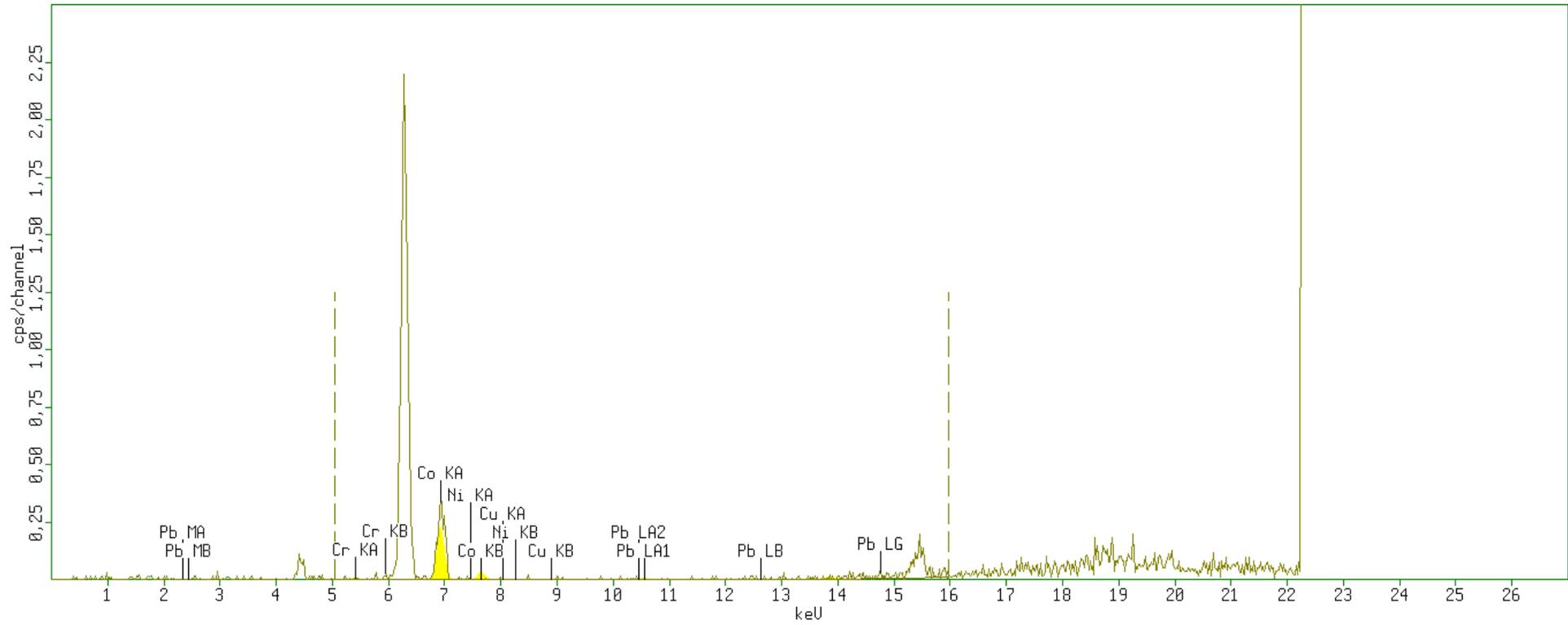


Figura 32 Espectro qualitativo da amostra CTR-AA-002 analisado com filtro de prata <Ni-Ag>, 30 kV, 300 uA, tempo de 60 segundos

6.2 Análise quantitativa

As metodologias foram aplicadas em solos de estudos de bioacumulação (L180Pb e L105Ni), do lixão de Itariri da cidade de Ilhéus-BA (CTR-AA-001 e CTR-AA-002) e de áreas contaminadas (AR2 0-5).

6.2.1 Análise direta

Tabela 16 Resultados das aplicações da metodologia de análise direta juntamente a faixa linear e os limites de detecção e quantificação das curvas de calibração

	Co	Cr	Cu	Ni	Pb
LD (mg kg⁻¹)	22,27	41,65	13,06	23,06	3,19
LQ (mg kg⁻¹)	74,23	138,82	43,54	76,86	10,64
Faixa linear (mg kg⁻¹)	LQ – 270	LQ – 270	LQ – 270	LQ – 270	LQ – 270
Solo AR2 0-5 (mg kg⁻¹)	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2555,0 ± 361,1
Solo L180Pb (mg kg⁻¹)	<LQ	154,76 ± 36,76	<LQ	<LQ	171,7 ± 6,4
Solo L105Ni (mg kg⁻¹)	<LQ	<LQ	<LQ	103,30 ± 13,49	<LQ
Solo CTR-AA-001 (mg kg⁻¹)	<LQ	<LQ	60,60 ± 5,08	<LQ	<LQ
Solo CTR-AA-002 (mg kg⁻¹)	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Resolução nº 420 CONAMA (mg kg⁻¹)	65	300	400	100	300

<LQ: abaixo do limite de quantificação; >LL: acima do limite linear; LD: limite de detecção.

Na Tabela 17 encontram-se os valores obtidos pelo teste de qui-quadrado para testar se a frequência observada concorda significativamente com a hipótese nula da frequência esperada (MILLER E MILLER, 2010) de amostras de solo que foram previamente contaminadas com chumbo ou níquel para estudo de bioacumulação (CORREIA, 2017). Valores de qui-quadrado observado menor do que o qui-quadrado crítico justifica que não há diferença significativa entre a concentração previamente contaminada para o estudo de bioacumulação e a concentração medida pela metodologia de análise direta desenvolvida.

Tabela 17 Teste de qui-quadrado para amostras de solo

<i>Amostra</i>	<i>Valor de Qui-quadrado observado</i>	<i>Valor crítico de Qui-quadrado com probabilidade de erro de 5%</i>
Amostra de Solo L180Pb (n=9)	5,31	15,51
Amostra de Solo L70Ni(30) (n=8)	12,42	14,07
Amostra de Solo L70Ni(120) (n=8)	11,89	14,07
Amostra de Solo L105Ni (n=6)	8,84	11,07
Amostra de Solo L270Pb(120) (n=8)	11,03	14,07

6.2.2 Análise aplicada a pré-concentração

Para determinar a concentração dos analitos na amostra após os resultados da pré-concentração e quantificação pelo Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva, foi feito o cálculo de acordo com a equação 4. Sendo C_{eq} a concentração resposta do equipamento ($mg L^{-1}$), V_d o volume do digerido (mL) e M_a massa da amostra (g).

$$\text{Concentração } (\mu g g^{-1}) = \frac{C_{eq} \times V_d}{M_a} \quad \text{equação 6}$$

Tabela 18 Resultados das amostras em utilizando a metodologia de pré-concentração juntamente a faixa linear e os limites de detecção e quantificação das curvas

Amostras	Cr	Co	Ni	Cu	Pb
LD ($\mu g L^{-1}$)	1,957	1,647	0,551	3,809	0,982
LQ ($\mu g L^{-1}$)	6,52	5,48	1,84	12,68	3,27
Faixa linear ($\mu g L^{-1}$)	6,52 –50,0	5,48- 40,0	1,84-50,0	12,68-50,0	3,27-50,0
Amostra de Solo (CTRAA001) ($\mu g g^{-1}$)	7,104 ± 1,385	4,438 ± 0,442	5,625 ± 1,827	0,958 ± 0,236	< LQ
Amostra de Solo (CTRAA002) ($\mu g g^{-1}$)	5,813 ± 0,324	3,344 ± 2,254	6,938 ± 0,501	1,038 ± 0,124	1,731 ± 0,239

7.0 CONCLUSÕES

A metodologia para análise multielementar direta em solo por Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva foi desenvolvida com sucesso. A qual permite a quantificação de concentrações de Pb, Cu, Cr e Ni (estes dois últimos sem presença de cobalto) comparáveis com os limites estabelecidos pela resolução de número 420 do CONAMA, em áreas residenciais. A metodologia de análise direta apresentou limitação quanto à presença de cobalto nas amostras interferindo na quantificação de cromo e níquel.

A metodologia de pré-concentração apresentou bons resultados, foi também validada internamente com êxito, com limites de detecção baixos, altos fatores de pré-concentração, fez com que aumentasse a aplicabilidade da técnica de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva, em até 158 vezes, podendo agora quantificar Co, Cr, Cu, Ni e Pb em concentrações traço para estudos de monitoramento e impactos ambientais dentre os demais que precisem de limites de detecção baixos.

Foi possível desenvolver as metodologias combinadas para quantificação de metais em amostras de solo, aumentando a aplicabilidade da técnica de Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva.

8.0 REFERÊNCIAS

ALEXANDRE, Thais Levatti. **Espectrometria de raios-x aliada a quimiometria no estudo de vegetais**. 2007. 112 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de química, Unicamp, Campinas, 2007.

ALMEIDA, E. *et al.* Determination of Cr, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As and Pb in liquid chemical waste by energy dispersive X-ray fluorescence. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 287, n. 1, p. 351–355, 2011.

AZEVEDO, Eduardo Bohrer de; GONZÁLEZ, FÉLIX D., H. **Deficiência de cobre, zinco, selênio e cobalto em animais**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2005. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/microminerais.pdf>>.

BALIZA, P. X.; GOMES TEIXEIRA L. S.; LEMOS, V. A. A procedure for determination of cobalt in water samples after dispersive liquid-liquid microextraction. **Microchemical Journal**, v.93, n.2, Nov, p.220-224. 2009.

BELIKOV, K. N. *et al.* X-ray fluorescence determination of mobile forms of Cu, Zn and Co in soils with preconcentration on silica gel modified by didecylaminoethyl- β -tridecylammonium iodide. Ucrânia, **Analytica Chimica Acta** **383**, 277-281, 1999.

BERNICK, M. B. *et al.* Results of field-portable X-ray fluorescence analysis of metal contaminants in soil and sediment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 43, n. 1-2, p. 101–110, 1995.

BEZERRA, Marcos De Almeida. Cloud Point Extraction as a Procedure of Separation and Pre - Concentration for Metal Determination Using Spectroanalytical Techniques : A Review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 40, p. 269–299, 2007.

BOS, A; BOS, M; LINDEN, W E Van Der. Artificial neural networks as a multivariate calibration tool: modeling the Fe-Cr-Ni system in x-ray fluorescence spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 277, p. 289–295, 1993.

BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente**, CONAMA. Resolução CONAMA nº 420, de 28 de Dezembro de 2009. – In: Resoluções, 2009. Disponível em: <http://www.mma.gov.br> Acesso em: 04.jan. 2016.

BROUWER, P. **Theory of XRF**. [s.l.: s.n.], 2010.

BROWN, T. L. *et al.* **Química a ciência central**. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005. 972p.

CASSELLA, Ricardo Jorgensen *et al.* Flow injection determination of cobalt after its sorption onto polyurethane foam loaded with 2-(2-thiazolylazo)-p-cresol (TAC). **Talanta**, v. 54, n. 1, p. 61–67, 2001.

CETESB. Regulamentação da Lei Federal Alemã de Proteção do Solo e de AC (RLFPs). 1999. Disponível em: <<http://areascontaminadas.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/45/2013/11/6510.pdf>>.

CHRISTENSEN, Leif Hdslet; PIND, Niels. The Application of Energy-dispersive X-Ray Fluorescence and the Fundamental Parameter Approach to the Analysis of Ni-Fe-Cr Alloys. **X-Ray Spectrometry**, v. 10, n. 4, 1981.

CORREIA, L. O. **Bioacumulação de Ni e Pb em plantas de tomate e cenoura**. 2017. 170 f. Tese (Doutorado) – Doutorado em desenvolvimento e meio ambiente, UESC, Ilhéus, 2017.

CUI, C., HE, M., HU, B., Membrane solid phase microextraction with alumina hollow fiber on line coupled with ICP-OES for the determination of trace copper, manganese and nickel in environmental water samples, China, **Journal of Hazardous Materials** **187**, v. 187, p. 379–385, 2011.

DALMAN O., DEMIRAK A., BALCI A., Determination of heavy metals (Cd, Pb) and trace elements (Cu, Zn) in sediments and fish of the Southeastern Aegean Sea (Turkey) by atomic absorption spectrometry, Peru, **Food Chem.** **95**, 157–162, 2006.

DOQ-CGCRE-008. **Orientação sobre validação de Métodos analíticos**: documento orientativo. INMETRO, Revisão: 04,Jul.2011.

EKSPERIANDOVA L.P., MAKAROVSKA Y.N., BLANK A.B. Determination of small quantities of heavy metals in water-soluble salts and natural water by X-ray fluorescence. Ucrânia, **Analytica Chimica Acta** **371**, 105-108, 1998.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 3050B: acid digestion of sediments, sludges, and soils. Revision 2. Washington: USEPA, 1996. 12p.

FAWELL, J.K. et. al. Copper in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. **World Health Organization**, p. 31, 2004. Disponível em: <www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/copper.pdf>.

FERREIRA, Sérgio Luís Costa, **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**. 1ª ed. Salvador: Vento Leste, 2015. 190p.

GIORDANO, Pablo C. *et al.* Optimization of the hydrolysis of lignocellulosic residues by using radial basis functions modeling and particle swarm optimization. **Biochemical Engineering Journal**, v. 80, p. 1–9, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2013.09.004>>.

GORDEEVA^a, V. P. et. al. X-ray Fluorescence Determination of Heavy Metals in Solutions after the Preconcentration of Their Pyrrolidinedithiocarbamate Complexes on Cellulose Filters. **Journal of Analytical Chemistry**, V. 57, N. 8, p. 701-707, 2002

GORDEEVA^b, V. P. et. al. X-ray fluorescence determination of As, Bi, Co, Cu, Fe, Ni, Pb, Se, V and Zn in natural water and soil extracts after preconcentration of their pyrrolidinedithiocarbamates on cellulose filters. Rússia, **Talanta** **61**, 315-329, 2003.

HASSAN S., YEGANEH E.H., SOHEILA S., Optimized ultrasound-assisted emulsification microextraction for simultaneous trace multielement determination of heavy metals in real water samples by ICP-OES, Iran, **Talanta** **97**, 235–241, 2012.

HASSAN, J. et. al. Thin Film-XRF Determination of Uranium Following Thin-Film Solid Phase Extraction. Iran, **J. Braz. Chem. Soc.** 1086- 1090, 2014.

JENKINS, R. X-ray Techniques : Overview. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, p. 13269–13288, 2000.

KALNICKY, D. J.; SINGHVI, R. Field portable XRF analysis of environmental samples. **Journal of Hazardous Materials**, v. 83, n. 1-2, p. 93–122, 2001.

KIM, J. K.; J.GIBBS, H.; D.HOWE, P.; WOOD, M. Concise International Chemical Assessment Document 69: Cobalt and Inorganic Cobalt Compounds. **World Health Organization**, p. 1–93, 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad70.pdf>>.

KOCOT, K., ZAWISZA, B., SITKO, R. Dispersive liquid–liquid microextraction using diethyldithiocarbamate as a chelating agent and the dried-spot technique for the determination of Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se and Pb by energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry. Polônia, **Spectrochimica Acta Part B** **73**, 79-83, 2012.

KOCOT, Karina et al. Determination and speciation of trace and ultratrace selenium ions by energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry using graphene as solid adsorbent in dispersive micro-solid phase extraction. **Talanta**, v. 134, p. 360–365, 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003991401400928X>>.

KORN, Maria Das Graças A et al. Separation and preconcentration procedures for the determination of lead using spectrometric techniques: A review. **Talanta**, v. 69, n. 1, p. 16–24, 2006.

KRUG, Francisco José. **Metodologias de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. [s.l.: s.n.], 2008.

LEMOS, Valfredo Azevedo et al. Development of a Method Using Ultrasound-Assisted Emulsification Microextraction for the Determination of Nickel in Water Samples. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226, n. 5, p. 141, 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11270-015-2392-8>>.

LI, Yong et al. Dispersive liquid–liquid microextraction based on the solidification of floating organic drop followed by ICP-MS for the simultaneous determination of heavy metals in wastewaters. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 140, p. 156–161, 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138614251401871X>>.

LUZARDO, Francisco Martínez, **LIBRO ELECTRONICO Diseño Experimental. Ejemplos de Aplicación**. (Havana: Instituto Superior de Ciencias y Tecnología Nucleares, 2001), edição 1.

MANGUÍ^a, E. et. al. Analytical possibilities of different X-ray fluorescence systems for determination of trace elements in aqueous samples pre-concentrated with carbon nanotubes. Espanha, **Spectrochimica Acta Part B** **88**, 192–197, 2013.

MARGUÍ, E. *et al.* High-energy polarized-beam EDXRF for trace metal analysis of vegetation samples in environmental studies. **X-Ray Spectrometry**, v. 35, n. 3, p. 169–177, 2006.

MARGUÍ, E.; QUERALT, I.; HIDALGO, M. Application of X-ray fluorescence spectrometry to determination and quantitation of metals in vegetal material. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 362–372, 2009.

MARGUÍ^b, E. et. al. Analytical Possibilities of Total Reflection X-ray Spectrometry (TXRF) for Trace Selenium Determination in Soils. Áustria, **Anal. Chem.**, **82**, 7744–7751, 2010.

MARTINS, Manoel Leonardo *et al.* Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): Fundamentos e aplicações. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 1, p. 29–45, 2012.

MEDEIROS, Miguel de Araujo. Elemento Químico Cobalto. **Química Nova na Escola**, v. 35, n. i, p. 220–221, 2013.

MELLO, A. P. A. et al. Sample preparation methods for subsequent determination of metals and non-metals in crude oil—A review, Brasil, **Analytica Chimica Acta** **746**, 15– 36, 2012.

MELQUIADES, F. L. **Medida da concentração de metais em água com equipamento portátil de EDXRF**. 2007. 116 f. Tese (Doutorado) – Curso de física, UEL, Londrina, 2007.

MELQUIADES^b, F. L. *et al.* Factorial design for Fe, Cu, Zn, Se and Pb preconcentration optimization with APDC and analysis with a portable X-ray fluorescence system. **Talanta**, v. 73, n. 1, p. 121–126, 2007.

MILLER, James M; MILLER, Jane C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. [s.l.: s.n.], 2010.

MOHAN, Dinesh; PITTMAN, Charles U. Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium from water. **Journal of Hazardous Materials**, v. 137, n. 2, p. 762–811, 2006.

MORAES, L. M. B. DE. **Utilização de duas variantes da fluorescência de raios X (EDXRF e TXRF) na determinação de chumbo em águas e sedimentos**. [s.l.] Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, 2004.

MORAES, M. P. G. **Determinação de metais pesados em Lodo de esgoto por Espectrometria de Fluorescência de Raios X**. 2003. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Geociências, Unicamp, Campinas, 2003.

NAGATA, Noemi; BUENO, Maria Izabel M S; PERALTA-ZAMORA, Patricio G. Metodologias matemáticas para correção de interferências espectrais e efeitos interelementos na análise quantitativa por fluorescência de raios-x. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 531–539, 2001.

OCAÑA-GONZÁLEZ, Juan Antonio *et al.* New developments in microextraction techniques in bioanalysis. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 905, p. 8–23, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2015.10.041>>.

OLESIK, John W. Elemental Analysis Using ICP-OES and ICP/MS. **Analytical Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 12A–21A, 1991.

OMOTE, Juichi; KOHNO, Hisayuki; TODA, Katsuhisa. X-ray fluorescence analysis utilizing the fundamental parameter method for the determination of the elemental composition in plant samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 307, n. 1, p. 117–126, 1995.

PENG, Y. *et al.* Rapid Analysis of Heavy Metals in Coastal Seawater Using Preconcentration with Precipitation/Co-precipitation on Membrane and Detection with X-Ray Fluorescence. China, **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 877–882, 2012.

PEREIRA, C. S. *et al.* Determination of gold in ore samples by energy dispersive X-ray fluorescence after separation and preconcentration on polyurethane foam. Brasil, **Microchemical Journal** **115**, 121–125, 2014.

POTTS, P. J. **A handbook of silicate rock analysis**. Milton Keynes, UK: Springer Science+Business Media, LLC, 1992.

PYTLAKOWSKA, K.; SITKO, R. Energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry combined with dispersive liquid–liquid microextraction for simultaneous determination of zinc and copper in water samples. Polônia, **Anal. Methods** **5**, 6192–6199, 2013.

PYTLAKOWSKA, Katarzyna. Graphene-Based Preconcentration System Prior to Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometric Determination of Co, Ni, and Cu Ions in Wine Samples. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 8, p. 2270–2279, 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12161-016-0412-y>>.

QUINÁGLIA, Gilson Alves. **Caracterização dos Níveis Basais de Concentração de Metais nos Sedimentos do Sistema Estuarino da Baixada Santista**. Universidade de São Paulo, 2006.

REZAEI, Mohammad; YAMINI, Yadollah; FARAJI, Mohammad. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2342–2357, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.088>>.

SAAVEDRA, Renato *et al.* Determination of lead(II) by thermal lens spectroscopy (TLS) using 2-(2'-thiazolylazo)-p-cresol (TAC) as chromophore reagent. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 308–313, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2013.04.019>>.

SANTOS, Mayara Costa dos. **Microextração líquido-líquido dispersiva aplicada a extração e pré-concentração de cobre em amostras ambientais da região de Mata Atlântica do Sul da Bahia**. Universidade Estadual de Santa Cruz, 2016.

SARAJI, Mohammad; BOROJENI, Malihe Khalili. Recent developments in dispersive liquid-liquid microextraction. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 406, n. 8, p. 2027–66, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24258401>>.

SARDANS J., MONTES F., PENUELAS J., Determination of As, Cd, Cu, Hg and Pb in biological samples by modern electrothermal atomic absorption spectrometry, Espanha, **Spectrochim. Acta B 65**, 97–112, 2010.

SCAFF, Luiz Alberto Malaguti, **Física da radioterapia**, São Paulo: Sarvier, 1997.

SCHIMIDT, Fernando; BUENO, M. I M S; POPPI, Ronei J. Aplicação de alguns modelos quimiométricos à espectroscopia de fluorescência de raios-x de Energia Dispersiva. **Química Nova**, v. 25, n. 6 A, p. 949–956, 2002.

SITKO, R. et. al. Liquid-phase microextraction as an attractive tool for multielement trace analysis in combination with X-ray fluorescence spectrometry: an example of simultaneous determination of Fe, Co, Zn, Ga, Se and Pb in water samples. Polônia, **J. Anal. At. Spectrom.** 26, 1979–1985, 2011.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5ª Edição. São Paulo: Bookman, 2002.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 6ª Edição. São Paulo: Bookman, 2009.

SKOOG, D. A. et al. Fundamentos da química analítica. 9ª Edição. São Paulo: Cengage Learning, 2012.

TURQUETTI, C. A., **Treinamento MINIPAL**. 2011. Apresentação para treinamento do equipamento de FRXED Minipal, 2011, Ilhéus, Bahia.

THOMPSON, Michael; ELLISON, Stephen L. R.; WOOD, Roger. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.

VAN DE VELDE, L.; D'ANGREMONTE, E.; OLTHUIS, W. Solid contact potassium selective electrodes for biomedical applications – a review. **Talanta**, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914016304763>>.

WEST, N. G. X-ray fluorescence spectrometry applied to the analysis of environmental samples. **Trends in analytical chemistry**, v. 3, n. 8, p. 199-204, 1984.

WHO, **World Health Organization Guidelines for Drinking-water Quality**, Nickel in Drinking-water, 2005, 22p.

WHO, **World Helth Organization**, Preventing disease through healthy environments exposure to lead: A major public health concern , Suiça, 2010.

ZAMBELLO, F. R. **Análise multielementar quantitativade solos e sedimentos por Espectrometria de Fluorescência de Raios X**. 2001. 64 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de geociência, Unicamp, Campinas, 2001.

ZAWISZA, Beata; SITKO, Rafał. Micro-electrodeposition in the presence of ionic liquid for the preconcentration of trace amounts of Fe, Co, Ni and Zn from aqueous samples.

Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy, v. 82, p. 60–64, 2013

9.0 APÊNDICE

Tabela 19: Análise qualitativa do material de referência RM 8704 seguida com os valores certificados

Elemento	Resposta analítica (cps)	Concentração no RM
Na	40,713	0,553 ± 0,015 (%)
Mg	-333,949	1,200 ± 0,018 (%)
Al	287,032	6,10 ± 0,18 (%)
K	1475,988	2,001 ± 0,041 (%)
Ca	3306,131	2,641 ± 0,083 (%)
Sc	19,638	11,26 ± 0,19 (mg kg ⁻¹)
Ti	1164,094	0,457 ± 0,02 (%)
V	60,746	94,6 ± 4,0 (mg kg ⁻¹)
Cr	4,354	121,9 ± 3,8 (mg kg⁻¹)
Mn	25,317	544 ± 21 (mg kg ⁻¹)
Fe	2654,958	3,97 ± 0,1 (%)
Co	24,886	13,57 ± 0,43 (mg kg⁻¹)
Ni	9,024	42,9 ± 3,7 (mg kg⁻¹)
Zn	95,211	408 ± 15 (mg kg ⁻¹)
As	-3,292	17 (mg kg⁻¹)
Cd	-70,277	2,94 ± 0,29 (mg kg ⁻¹)
Sb	9,19	3,07 ± 0,32 (mg kg ⁻¹)
Cs	-3,049	5,83 ± 0,12 (mg kg ⁻¹)
Ba	18,623	413 ± 13 (mg kg ⁻¹)
Ce	17,749	66,5 ± 2 (mg kg ⁻¹)
Eu	-1,908	1,31 ± 0,038 (mg kg ⁻¹)
Hf	2,54	8,4 ± 1,5 (mg kg ⁻¹)
Pb	56,186	150 ± 17 (mg kg⁻¹)
Th	11,473	9,07 ± 0,16 (mg kg ⁻¹)
U	14,338	3,09 ± 0,13 (mg kg ⁻¹)

Tabela 20 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan

	Cont.	Medidas	Grupos homogêneos							
P1 Cr	8	0,174375	X							
P5 Cr	8	0,185375	X							
P2 Cr	8	0,1875	X							
P4 Cr	9	0,188333	X							
P4 Pb	7	0,765857	X							
P5 Pb	9	0,827444	X							
P1 Pb	10	0,8479	X							
P2 Pb	8	0,9035	X	X						
P5 Co	8	1,2065		X	X					
P2 Co	7	1,351		X	X					
P1 Co	9	1,37656		X	X					
P3 Cr	8	1,5355			X					
P4 Co	8	1,58725		X	X					
P3 Pb	8	1,8715			X	X				
P3 Co	8	2,05575				X				
P4 Cu	9	2,84911				X				
P5 Cu	8	2,87488				X				
P2 Cu	8	3,00612				X	X			
P3 Cu	8	3,20887					X	X		
P1 Cu	10	3,2934					X	X		
P1 Ni	10	5,6944								X
P2 Ni	8	5,727								X
P5 Ni	8	5,76737								X
P4 Ni	9	5,86744							X	X
P3 Ni	9	6,08222								X

Tabela 21 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan para cobalto

	Count.	Medida	Grupos homogêneos	
P5 Co	8	1,2065	X	
P2 Co	7	1,351	X	X
P1 Co	9	1,37656	X	X
P4 Co	8	1,58725		X
P3 Co	8	2,05575		X

Tabela 22 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan para cromo

	Count.	Medida	Grupos homogêneos	
P1 Cr	8	0,174375	X	
P5 Cr	8	0,185375	X	
P2 Cr	8	0,1875	X	
P4 Cr	9	0,188333	X	
P3 Cr	8	1,5355		X

Tabela 23 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan para cobre

	Count.	Medida	Grupos homogêneos	
P5 Cu	9	2,84911	X	
P2 Cu	8	2,87488	X	
P1 Cu	8	3,00612	X	X
P4 Cu	8	3,20887	X	X
P3 Cu	10	3,2934		X

Tabela 24 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan para níquel

	Count.	Medida	Grupos homogêneos	
P1 Ni	8	1,2065	X	
P2 Ni	7	1,351	X	X
P5 Ni	9	1,37656	X	X
P4 Ni	8	1,58725	X	X
P3 Ni	8	2,05575		X

Tabela 25 Tabela com os resultados do teste estatístico de análise múltipla de médias de Duncan para chumbo

	Count.	Medida	Grupos homogêneos
P4 Pb	7	0,765857	X
P5 Pb	9	0,827444	X
P1 Pb	10	0,8479	X
P2 Pb	8	0,9035	X
P3 Pb	8	1,8715	X

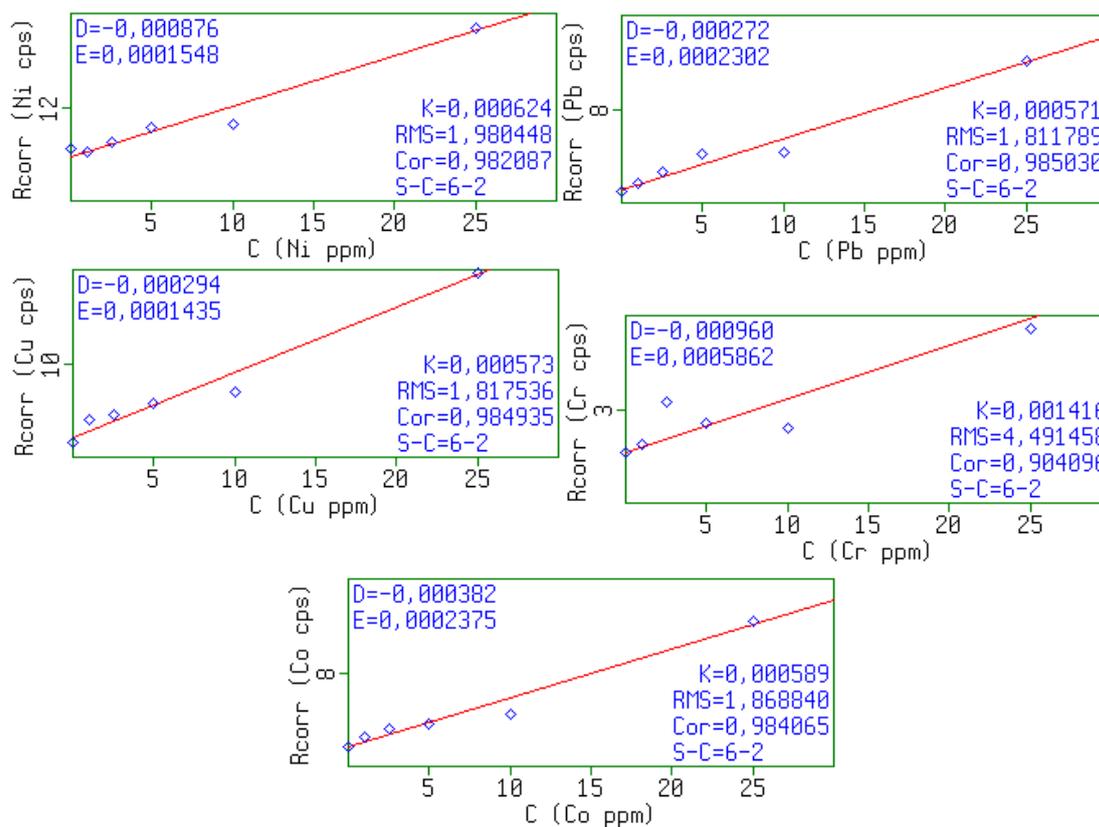


Figura 33 Curvas de calibração sem pré-concentração para cálculo do fator de enriquecimento, onde D é o intercepto, E a inclinação, K o fator de calibração, RMS o erro padrão, S-C grau de liberdade e Cor é o coeficiente de correlação.