



Comparação entre os métodos de calibração externa e por adição de padrão na determinação de espécies metálicas em solo

Comparison between external calibration and standard addition methods in the determination of metallic species in soil

Lúrian Aparecida Domingos da Cruz¹, Danielle Caroline Schnitzler²

RESUMO

O solo é um recurso valioso e um dos fatores que prejudicam sua qualidade é a contaminação por espécies metálicas, sendo importante sua determinação. Porém, o solo é uma matriz complexa existindo a necessidade de encontrar o método de calibração mais adequado. Portanto, o objetivo desse trabalho foi comparar os métodos de calibração externo e calibração por adição de padrão na determinação de cobalto, níquel e chumbo em solo. Esse trabalho foi realizado com solo certificado, sendo dividido em 2 porções, 1 para cada método de calibração. A extração foi feita com base no protocolo EPA 3050B e a quantificação por ICP-OES. As curvas construídas a partir da calibração externa apresentaram um maior coeficiente de correlação, acima de 0,996, mostrando uma melhor linearidade, devido à complexidade da amostra. A partir do estudo de paralelismo, observar-se efeito de matriz, já que as retas dos dois métodos não são paralelas para os metais estudados. O estudo de recuperação mostrou um resultado compatível com o esperado de 90% a 120% para todos os metais na calibração por adição de padrão quando considerado os desvios padrão. Conclui-se que há um efeito de matriz que interfere na determinação de metais em solo.

PALAVRAS-CHAVE: Curva de calibração, Espécies Metálicas, Solo.

ABSTRACT

Soil is a valuable resource and one of the factors that harm its quality is contamination by metallic species, which is important to determine. However, soil is a complex matrix and there is a need to find the most appropriate calibration method. Therefore, the objective of this work was to compare the methods of external calibration and calibration by standard addition in the determination of cobalt, nickel and lead in soil samples. This work was carried out with certified soil, being divided into 2 portions, 1 for each calibration method. Extraction was performed based on the EPA 3050B protocol and quantification by ICP-OES. The curves constructed from external calibration showed a higher correlation coefficient, above 0.996, showing better linearity, due to the complexity of the sample. From the parallelism study, it is possible to observe a matrix effect, since the straight lines of the two methods are not parallel for the metals studied. The recovery study showed a result compatible with expectations of 90% to 120% for all metals in the calibration by standard addition when considering the standard deviations. It is concluded that there is a matrix effect that interferes with the determination of metals in soil samples.

KEYWORDS: Calibration curve, Metallic Species, Soil.

INTRODUÇÃO

Espécies metálicas potencialmente tóxicas, possuem características que favorecem a contaminação em diferentes matrizes ambientais. Neste contexto, pode ser destacado: a estabilidade ambiental, difícil degradação, fácil acúmulo e tendência em se converter em substâncias mais tóxicas (DONG et. al., 2019).

Quando se fala em matrizes ambientais, o solo e seus contaminantes se tornam uma preocupação, pois se trata de um recurso natural extremamente importante, é a base para o cultivo de vegetação e fonte de alimento para as plantas e o espaço de vida onde

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: lurian.2016@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 3354974814186276.

² Docente no Química/DAQBi/PPGQ. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: daniellec@utfpr.edu.br. ID Lattes: 2792378593740190.



a agricultura, pecuária e silvicultura são desenvolvidos, atividades que são fundamentais para a alimentação dos seres vivos. O solo é composto de minerais, água, ar e matéria orgânica. Esta composição pode ser dividida também em macronutrientes metais e não metais e em micronutrientes metais e não metais. Porém, em excesso, esses metais podem ser potencialmente tóxicos (MORILLAS, 2019).

A análise quantitativa de metais em solo é muito desafiadora, principalmente porque as matrizes ambientais são muito complexas e têm interferência incerta, e o conteúdo do analito na amostra ambiental pode ser muito baixo (WU, 2020).

Deste modo, é preciso determinar de forma eficiente a concentração de metais no solo, avaliando se o teor é compatível com o esperado ou se há contaminação. Porém, para que essa avaliação seja eficiente, levando em conta a complexidade da matriz, é necessário focar em um dos fatores que mais pode dificultar ou até mesmo levar a resultados insatisfatórios, o método de calibração.

Os métodos de calibração mais comuns são: (i) calibração externa e (ii) calibração por adição de padrão. A calibração externa é, sem dúvida, a técnica de calibração mais discutida e utilizada nas análises químicas instrumentais. Nesse caso, soluções analíticas de concentrações diferentes e crescentes são previamente preparadas e analisadas. Porém é comum acontecer erros sistemáticos pelo uso inadequado dessa calibração (SILVESTRE, 2014) e não é indicada para matrizes complexas, aumentando o efeito matriz (interferência no sinal instrumental devido a composição da curva ser diferente a composição da amostra) (QUEIROZ, 2012). A calibração com adição de padrão e a calibração com compatibilização de matriz são comumente utilizadas quando há interferência causada pela matriz e/ou interferência física. (SILVESTRE, 2014), esta curva de calibração é preparada na própria amostra, adicionando padrões de concentrações diferentes nas mesmas quantidades de amostra, essa técnica minimiza o efeito matriz, ideal para amostras complexas, pela dificuldade de reproduzir a matriz (QUEIROZ, 2012).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi comparar os métodos de calibração; (i) externo e (ii) por adição de padrão na avaliação das espécies metálicas cobalto, níquel e chumbo em solo certificado.

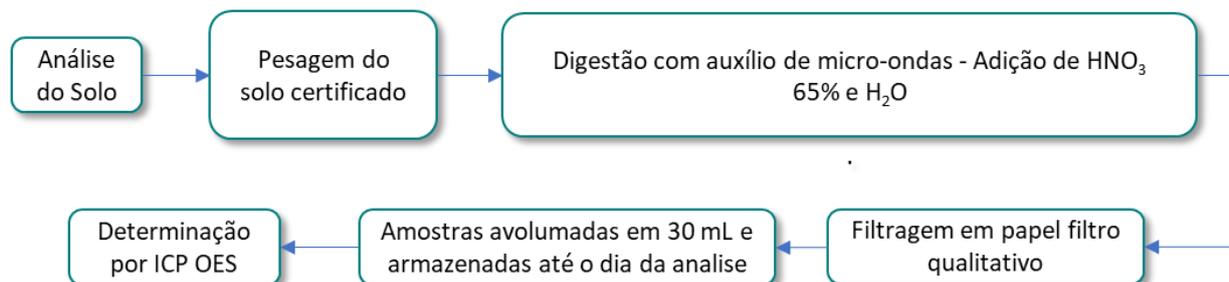
MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os materiais, como vidrarias, porcelanas, recipientes plásticos e acessórios, como espátulas, utilizados nos procedimentos, foram submetidos, previamente, à lavagem, conforme técnicas limpas (CETESB, 2011, adaptado); Todos os materiais foram guardados em sacos plásticos e vedados até o momento da utilização.

O solo utilizado neste trabalho foi proveniente do solo certificado LGCQC3004, ele foi dividido em 2 porções, 1 para cada método de calibração.

A digestão foi realizada com auxílio de um micro-ondas (ANTON PAAR, MULTIWAVE GO) e seguiu o protocolo de digestão ácida 3050B (USEPA, 1996, adaptada). Para o experimento a massa de cada porção de solo certificado foi de 0,3g. O procedimento está descrito na figura 1.

Figura 1 - Fluxograma do procedimento de digestão do solo



Fonte: Autoria Própria (2023)

Após o procedimento de abertura, as soluções de solo certificado digerido foram armazenadas em refrigerador e encaminhadas a análise instrumental por Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES) Agilent (modelo 5800).

Para construir as curvas de calibração foi preparada seis soluções com auxílio de uma solução padrão de metais multielementar da marca Sigma-Aldrich, através de diluições com água ultrapura acidificada a 5% com ácido nítrico, com as espécies metálicas de interesse em diferentes concentrações, conforme a tabela 1:

Tabela 1 – Concentrações das espécies metálicas nas curvas de calibração

Espécies metálicas	Concentração (mg L ⁻¹)					
	Solução 1	Solução 2	Solução 3	Solução 4	Solução 5	Solução 6
Co	2	4	5	6	8	10
Ni	2	4	5	6	8	10
Pb	2	4	5	6	8	10

Fonte: Autoria Própria (2023)

Para a calibração externa (curva 1), as soluções contendo as espécies metálicas foram lidas de forma independente pelo equipamento, à parte das soluções do solo certificado digerido, e, para cada metal, uma curva foi construída.

Na calibração por adição de padrão, a curva de calibração foi preparada na própria solução de solo certificado digerido, adicionando as soluções de concentrações diferentes das espécies metálicas nas mesmas proporções de amostra.

Para a curva 2 (calibração por adição de padrão) a solução do solo certificado digerido foi dividida em 6 porções de 5 mL, a primeira é o branco (não houve adição da solução de metais), as demais tiveram a adição de 100 µL das soluções 1, 2, 3, 5 e 6 contendo os metais de interesse, formando 6 pontos. Cada um dos pontos da curva foi lido em triplicata.

Com a construção das curvas para cada metal, houve um estudo de paralelismo, utilizando o coeficiente angular para avaliar se a complexidade da matriz interfere na análise. Em seguida, fez-se o cálculo do limite de detecção, limite de quantificação e por fim, a concentração encontrada em ambas as calibrações foi comparada com as concentrações de cada metal existentes no solo certificado.

RESULTADOS E DISCUSSÕES



Após a construção das curvas de calibração, foi possível determinar as equações de regressão linear na forma $y = ax + b$, para cada espécie metálica e para cada método de calibração, assim como, o limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) de cada um. A determinação do LD e LQ foi feita a partir das equações 1 e 2, respectivamente, onde 3,3 e 10 são os fatores de confiança, S_b é o desvio padrão do branco da curva e a é o coeficiente angular da curva. Todas as informações das curvas estão expostas nas tabelas 2 e 3:

$$LD = 3,3 \times \frac{S_b}{a} \text{ Equação (1)}$$

$$LQ = 10 \times \frac{S_b}{a} \text{ Equação (2)}$$

Tabela 2: Dados das curvas de calibração – Calibração externa

Metal	Calibração externa		
	Co	Ni	Pb
Coeficiente angular (a)	7425,40 ± 105,19	10130,43 ± 146,04	3124,43 ± 53,47
Coeficiente Linear (b)	-310,50 ± 379,82	-424,69 ± 514,34	143,43 ± 168,98
Coeficiente de correlação (R ²)	0,997878	0,997441	0,996761
Limite de detecção (LD) (ppm)	0,031656	0,032732	0,049157
Limite de quantificação (LQ) (ppm)	0,095926	0,099189	0,148959

Fonte: Autoria Própria (2023)

Tabela 3: Dados das curvas de calibração – Calibração por adição de padrão

Metal	Adição de padrão		
	Co	Ni	Pb
Coeficiente angular (a)	9125,52 ± 921,46	8908,40 ± 844,86	2043,57 ± 209,77
Coeficiente Linear (b)	4290,77 ± 109,78	4948,32 ± 108,13	1155,35 ± 28,31
Coeficiente de correlação (R ²)	0,972987	0,954057	0,953799
Limite de detecção (LD) (ppm)	0,052061	0,064366	0,071385
Limite de quantificação (LQ) (ppm)	0,157759	0,195048	0,216320

Fonte: Autoria Própria (2023)

Com o estudo de paralelismo, feito para verificar se a complexidade da matriz influencia no método de determinação das espécies metálicas, pode-se ver com os coeficientes angulares, que as retas de cada metal não são paralelas, levando em conta, que as retas não têm a mesma inclinação, sendo assim, é possível perceber que a complexidade da matriz influencia sim na determinação das espécies metálicas estudadas (FURQUIM, 2018). Com os coeficientes angulares também se percebe a sensibilidade da calibração, quanto maior numericamente é seu valor, maior é sua sensibilidade, indicando que o chumbo é o metal mais sensível, e comparando os métodos, para cobalto, o método de adição de padrão é mais sensível, enquanto para o níquel e chumbo a calibração externa é mais sensível (SKOOG, 2002).

Percebe-se também que os coeficientes de correlação das retas construídas a partir do método de adição de padrão é menor que os coeficientes das retas construídas a partir da calibração externa, também devido à complexidade da matriz, afetando assim a linearidade da reta. Os limites de detecção e quantificação, são ligeiramente menores para as análises utilizando a calibração externa, se mostrando um método mais sensível (SKOOG, 2002).



Com auxílio das equações de reta foi possível determinar as concentrações encontradas na amostra, na calibração externa, a resposta do equipamento foi colocada na equação como y e o x corresponde a concentração do metal no solo certificado. Já na calibração por adição de padrão o y foi igualado a zero e o modulo de x corresponde a concentração do metal no solo certificado. Em seguida, usando as concentrações correspondente ao solo certificado, um cálculo de recuperação foi realizado, de acordo com a equação 3, no qual R é recuperação, x concentração experimental, obtidas pelas equações de reta e x_s é a concentração do solo certificado. Todos os valores estão indicados na tabela 4.

$$R = \frac{x \cdot 100}{x_s} \quad \text{Equação (3)}$$

Tabela 4: Resultados de concentração e recuperação para a amostra de solo

Metal	Concentração do solo ($\mu\text{g/g}$)	Calibração externa		Adição de padrão	
		Concentração encontrada ($\mu\text{g/g}$)	Recuperação (%)	Concentração encontrada ($\mu\text{g/g}$)	Recuperação (%)
Co	36	42,35 \pm 1,63	113,11 a 122,17	44,35 \pm 5,30	108,47 a 137,92
Ni	61	74,87 \pm 0,61	121,73 a 123,74	52,34 \pm 5,81	76,28 a 95,33
Pb	50	47,25 \pm 1,30	91,90 a 97,10	53,33 \pm 6,32	94,02 a 119,30

Fonte: Autoria Própria (2023)

Quando observa-se as concentrações encontradas, os melhores resultados são do cobalto no método de calibração externa e chumbo em ambos os métodos de calibração, apresentando valores próximo do real. Porém, observando os desvios padrão dos resultados a partir da calibração por adição de padrão é possível perceber que todos os metais estudados, se aproximam do valor real. No estudo de recuperação, pode-se ver que o cobalto na calibração externa e o chumbo em ambos os métodos, apresentam resultados dentro do esperado, que seria de 90% a 120%. Porém, mais uma vez, se considerarmos o desvio padrão, as recuperações de todos os metais estudados a partir da calibração por adição de padrão apresentam recuperação dentro do esperado.

Os desvios padrão nas concentrações obtidas a partir do método de adição de padrão apresentam valores maiores que as concentrações obtidas a partir da calibração externa, significando uma discrepância entre os valores individuais de cada leitura pelo equipamento, indicando que o método de calibração externa apresenta uma melhor reprodutividade, possivelmente, devido a não interferência da matriz complexa. Entretanto, quando se considera o efeito matriz, o resultado a partir da calibração por adição de padrão é mais confiável, necessitando um ajuste no método, para que diminua a discrepância entre os valores individuais.

CONCLUSÃO

Conclui-se que existe um efeito matriz que interfere na determinação de metais em solo e o método de calibração mais adequado é a adição de padrão. Entretanto, existe a necessidade de ajustes no método de análise para diminuir a discrepância entre os



valores individuais das análises, porém, devido a um bom resultado no estudo de recuperação conclui-se que a metodologia aplicada foi eficaz para os metais analisados.

Agradecimentos

Agradeço a orientadora do projeto Prof^(a). Danielle Caroline Schnitzler, a UTFPR e ao LEMASSA. Ao Ministério Público do Paraná e ao Ministério do Trabalho. Ao Programa de pós-graduação da UTFPR. Ao LAMAQ e aos meus colegas de laboratório.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse

REFERÊNCIAS

CETESB. Guia Nacional De Coleta E Preservação De Amostras: Água, Sedimento, **Comunidades Aquáticas E Efluentes Líquidos**. São Paulo, 2011.

DONG, W. et. al. Health risk assessment of heavy metals and pesticides: A case study in the main drinking water source in Dalian, China. **Chemosphere**. 2019.

FURQUIM, T. V. Estudo de métodos para determinações de As, Cd, Cr, Hg e Pb em fertilizantes minerais por MIP OES. Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Química. São Paulo. 2018.

MORILLAS, H. et. al. Impact assessment of metals on soils from Machu Picchu archaeological site. **Chemosphere**. 2019.

QUEIROZ, J. C. et al. Influência das propriedades de adsorventes naturais e modificados na remoção de íons Cu²⁺ e Pb²⁺ em solução. 2012.

SILVESTRE, Daniel Menezes et al. Experimento utilizando grãos para explorar a calibração em análises químicas. **Química Nova**, v. 37, p. 1545-1549, 2014.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; Princípios de Análise Instrumental, 5ª ed., Bookman: Porto Alegre, 2002

USEPA, Method 3050B. Acid Digestion of Sediments, Sledges and soils, Washington, DC. 1996.

WU, Hai-Long et al. Recent applications of multiway calibration methods in environmental analytical chemistry: A review. **Microchemical Journal**, v. 159, p. 105575, 2020.