

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**“ESPECIAÇÃO REDOX DE CRÔMIO EM AMOSTRAS DE
SOLOS CONTAMINADOS”**

Natália Tostes Canevari*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientador: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho

*** bolsista CAPES**

**São Carlos - SP
2012**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C221er

Canevari, Natália Tostes.

Especiação redox de cromo em amostras de solos contaminados / Natália Tostes Canevari. -- São Carlos : UFSCar, 2012.
59 f.

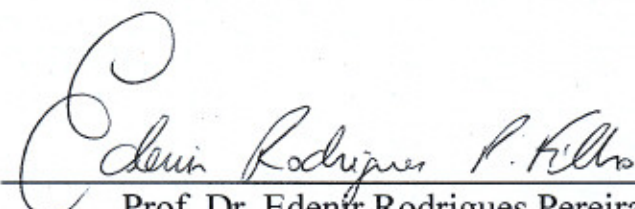
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2012.

1. Química analítica. 2. Especiação química redox. 3. Solos. 4. Espectrofotometria. 5. Análise por injeção de fluxo. 6. Espectroscopia de absorção de raios X. I. Título.

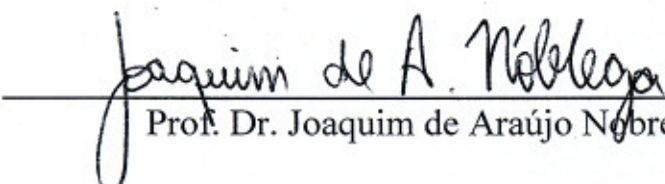
CDD: 543 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado Acadêmico

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de dissertação de Mestrado Acadêmico da candidata Natália Tostes Canevari, realizada em 21 de março de 2012:


Prof. Dr. Edemir Rodrigues Pereira Filho


Prof. Dra. Marcia Andreia Mesquita Silva da Veiga


Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nobrega

“É graça divina começar bem. Graça maior persistir na caminhada certa. Mas a graça das graças é não desistir nunca.”

Dom Hélder Câmara

Dedico este trabalho à minha família, pelo amor, carinho, confiança e apoio em todos os momentos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por me dar força de vontade e saúde para conseguir superar os obstáculos e atingir meus objetivos.

Aos meus pais, Ana Maria e Reinaldo, meu irmão Vinícius e meus avós Marlene, José, Neide e Reynaldo, pelo amor, confiança em mim depositada e apoio nos momentos difíceis. Sem vocês nada disso teria sido possível.

Ao Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho, pela excelente orientação, amizade e boa convivência. Agradeço a todas as importantes sugestões para o trabalho e por contribuir para o meu crescimento como profissional e pessoa.

Ao Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega e à Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira, pelas contribuições feitas para o trabalho.

Aos membros da banca examinadora, pelas correções e importantes sugestões.

Ao Eder, pelo amor, carinho, companheirismo, ajuda nos momentos difíceis e constante preocupação com meu bem estar.

A todos os companheiros de trabalho e amigos do Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA): Alex, Amália, Amanda, Ana Beatriz, Caio, Carla, Catarinie, Clarice, Érica, George, Jenny, Kelber, Luana, Luciana, Lucimar, Mirian, Paula, Poliana, Renata, Rodrigo e Sidnei, pela amizade, solidariedade, troca de conhecimentos e sugestões para o trabalho.

À Amanda e Luciana, pela amizade verdadeira construída ao longo desses dois anos, pelos momentos alegres, paciência e oportunidade de aprendizado conjunto.

À Amália, por todos os ensinamentos e auxílio prestado desde a época de minha iniciação científica.

Ao Dr. Marcelo Braga Bueno Guerra, pelo fornecimento das amostras de solos empregadas neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria, por permitir que parte do trabalho fosse desenvolvida nas dependências de seu laboratório de pesquisa.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), onde as medidas de XANES e EXAFS foram realizadas, e ao Dr. Carlos A. Perez e Júnior Cintra Maurício, pela assistência durante estes experimentos.

A todos os professores do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, por terem contribuído com minha formação acadêmica desde o curso de graduação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos, pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Às secretárias da pós-graduação Ariane, Cristina e Luciani, pelo atendimento e colaboração.

A todos que contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho.

Muito obrigada.

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica (Atomic absorption spectrometry)
BCR	Gabinete Comunitário de Referência (Bureau Communautaire de Référence)
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
DFC	Difenilcarbazida
DIN	Instituto Alemão para Normatização (Deutsches Institut für Normung)
ETAAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (Electrothermal atomic absorption spectrometry)
EXAFS	Extended X-ray absorption fine structure
FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama (Flame atomic absorption spectrometry)
FIA	Análise por injeção em fluxo (Flow injection analysis)
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Inductively coupled plasma optical emission spectrometry)
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry)
LD	Limite de detecção
LNLS	Laboratório Nacional de Luz Síncrotron
LQ	Limite de quantificação
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (National Institute of Standards and Technology)
PLS	Método dos mínimos quadrados parciais (Partial Least Squares)
RMSECV	Raiz quadrada do erro médio quadrático de validação cruzada (Root mean square error of cross validation)
RSD	Desvio padrão relativo (Relative standard deviation)
SD	Desvio padrão (Standard deviation)

SID-ICP-MS	Especiação por diluição isotópica e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (Speciated isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry)
SRM	Material de referência certificado (Standard reference material)
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (United States Environmental Protection Agency)
UV-Vis	Ultravioleta-visível
XAFS	X-ray absorption fine structure
XANES	X-ray absorption near edge structure
XAS	Espectroscopia de absorção de raios X (X-ray absorption spectroscopy)
XRF	Fluorescência de raios X (X-ray fluorescence)

LISTA DE TABELAS

TABELA 5.1 - Concentrações de Cr pseudototal nas amostras e respectivos desvios padrão e desvios padrão relativos (n = 6).	31
TABELA 5.2 - Concentrações de Cr(VI) determinadas com o emprego de diferentes soluções extratoras.	39
TABELA 5.3 - Planejamento fatorial fracionário 2^{6-3} para otimização do segundo sistema de análise por injeção em fluxo.....	42
TABELA 5.4 - Níveis das variáveis do planejamento fatorial fracionário 2^{6-3} para otimização do segundo sistema de análise por injeção em fluxo.	42
TABELA 5.5 - Melhores respostas para o terceiro sistema de análise por injeção em fluxo.....	45
TABELA 5.6 - Concentrações de Cr(III) e (VI) nas amostras para leituras realizadas em batelada e com emprego do sistema de análise por injeção em fluxo (n = 3).....	46
TABELA 5.7 - Figuras de mérito empregadas para a avaliação do desempenho analítico dos métodos de determinação de Cr(VI).	48
TABELA 5.8 - Concentrações de Cr(VI) adicionadas nos extratos básicos do material de referência certificado para o método das adições de padrão.	50

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1 - Fonte de radiação síncrotron do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, localizado em Campinas (SP).....	19
FIGURA 3.2 - Regiões de XANES e EXAFS para uma amostra de FeO.....	20
FIGURA 4.1 - Deposição das alíquotas de 20 μL dos extratos nas placas de carbeto de silício.	27
FIGURA 4.2 - Linha de luz XRF do LNLS, onde foram realizadas as medidas de XANES.	27
FIGURA 4.3 - Posicionamento das placas de carbeto de silício para as medidas de XANES.	28
FIGURA 5.1 - Espectro de absorção de solução padrão de Cr(III) com concentração de 100 mg L^{-1}	32
FIGURA 5.2 - Espectro de absorção de solução padrão de Cr(VI) com concentração de 100 mg L^{-1}	33
FIGURA 5.3 - Espectro de absorção de solução padrão de Cr(III) e (VI) com concentração de 100 mg L^{-1} para cada espécie.....	33
FIGURA 5.4 - Espectro de absorção de solução padrão de Cr(VI) com concentração de 1 mg L^{-1}	34
FIGURA 5.5 - Espectro de absorção da amostra 3 sem adição de Cr(VI).	34
FIGURA 5.6 - Espectro de absorção da amostra 3 com adição de 0,5 mg L^{-1} de Cr(VI).....	35
FIGURA 5.7 - Espectro de absorção da amostra 3 sem adição de Cr(VI), obtido com emprego da técnica EXAFS.	36
FIGURA 5.8 - Espectro de absorção da amostra 3 com adição de Cr(VI), obtido com emprego da técnica EXAFS.	37
FIGURA 5.9 - Primeiro sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido, com o injetor na posição de injeção.	38
FIGURA 5.10 - Segundo sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido, com o injetor na posição de injeção.	41
FIGURA 5.11 - Terceiro sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido, com o injetor na posição de amostragem.	44
FIGURA 5.12 - Terceiro sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido, com o injetor na posição de injeção.	44

- FIGURA 5.13** - Curvas de calibração obtidas para os métodos de determinação de Cr(VI) em batelada (a) e com uso do sistema de análise por injeção em fluxo (b). ..47
- FIGURA 5.14** - Diagrama obtido na leitura da curva de calibração.49
- FIGURA 5.15** - Diagramas obtidos nas leituras das amostras de solos 1, 3 e 8 sem (a) e com (b) introdução de difenilcarbazida no sistema.49

RESUMO

ESPECIAÇÃO REDOX DE CRÔMIO EM AMOSTRAS DE SOLOS CONTAMINADOS

O crômio e seus compostos são empregados em diversos processos industriais, sendo estas atividades responsáveis pelo descarte de quantidades significativas de materiais contendo este elemento no meio ambiente. Devido ao reconhecido caráter tóxico do Cr(VI) em sistemas biológicos, a determinação de espécies de crômio vem adquirindo grande importância em química ambiental. Neste trabalho foram combinadas três estratégias analíticas, a espectroscopia de absorção de raios X, a espectrometria de absorção atômica com chama e a espectrofotometria de absorção molecular no UV-Vis, visando à identificação e determinação de Cr(III) e (VI) em amostras de solos contaminados. As amostras foram coletadas ao redor da Estação Antártica Comandante Ferraz, estação científica brasileira na Antártica. Para as análises de crômio pseudototal, empregou-se a digestão ácida no preparo das amostras e as determinações foram realizadas utilizando-se um espectrômetro de absorção atômica com chama. Solução extratora Na_2CO_3 $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ - NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e aquecimento foram empregados para a extração de Cr(VI) nas amostras, e a identificação preliminar desta espécie foi realizada com o uso das técnicas XANES e EXAFS no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron. Para determinação de Cr(VI), NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e aquecimento foram utilizados na extração da espécie, e as determinações foram baseadas na reação do Cr(VI) com o reagente colorimétrico difenilcarbazida em meio ácido, através do uso de um sistema de análise por injeção em fluxo acoplado a um espectrofotômetro de absorção molecular. A quantificação de Cr(III) foi realizada pela subtração entre o teor de crômio pseudototal e o teor de Cr(VI). Os resultados obtidos foram comparados com aqueles calculados a partir da determinação de Cr(VI) com difenilcarbazida em batelada. As concentrações de Cr(VI) determinadas nas amostras de solos com emprego dos dois métodos foram discordantes, sendo estas diferenças provenientes de problemas ocorridos no sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido.

ABSTRACT

REDOX ESPECIATION OF CHROMIUM IN CONTAMINATED SOIL SAMPLES

Chromium and its compounds are employed in various industrial processes, and these activities are responsible for the disposal of significant amounts of materials containing this element in the environment. Due to the known toxic feature of Cr(VI) in biological systems, the determination of chromium species has acquired great importance in environmental chemistry. In this study three analytical strategies were combined, X-ray absorption spectroscopy, flame atomic absorption spectrometry and UV-Vis molecular absorption spectrophotometry, in order to identify and determine Cr(III) and (VI) in contaminated soil samples. The samples were collected around the Comandante Ferraz Antarctic Station, a Brazilian scientific station in Antarctica. For the pseudototal chromium analysis, acid digestion was employed for sample preparation and determinations were performed using a flame atomic absorption spectrometer. Na_2CO_3 0.28 mol L^{-1} - NaOH 0.5 mol L^{-1} extractor solution and heating were used for Cr(VI) extraction in the samples, and preliminary identification of this specie was performed using XANES and EXAFS techniques at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory. For Cr(VI) determination, NaOH 0.1 mol L^{-1} and heating were employed for the extraction of the specie, and determinations were based on the reaction of Cr(VI) with the colorimetric reagent diphenylcarbazide in acid medium, using a flow injection analysis system coupled to a molecular absorption spectrophotometer. The quantification of Cr(III) was carried out by subtraction between the pseudototal chromium concentration and Cr(VI) concentration. Results obtained were compared with those calculated from the determination of Cr(VI) with diphenylcarbazide in batch mode. Chromium (VI) concentrations determined in soil samples using both methods were discordant, and these differences were originated from problems occurred in the developed flow injection analysis system.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	2
2 – OBJETIVO	5
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
3.1 – O elemento crômio	7
3.1.1 – Ocorrência de crômio em solos	8
3.2 – Análise de especiação elementar	9
3.2.1 – Preparo de amostra para determinação de Cr(VI) em solos	11
3.3 – Espectrometria de absorção atômica com chama	13
3.4 – Espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)	13
3.5 – Métodos de análise automatizados	15
3.5.1 – Análise por injeção em fluxo	15
3.5.2 – Aplicação da análise por injeção em fluxo para determinação de Cr(VI)	16
3.6 – Espectroscopia de absorção de raios X com radiação síncrotron	18
3.6.1 – Técnicas de espectroscopia de absorção de raios X com radiação síncrotron	20
4 – MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 – Amostras	24
4.2 – Reagentes e soluções	25
4.3 – Preparo de amostra e determinação de Cr pseudototal	25
4.4 – Preparo de amostra e identificação de Cr(VI)	26
4.5 – Preparo de amostra e determinação de Cr(VI)	28
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 – Determinações de Cr pseudototal nas amostras de solos	31
5.2 – Identificação de Cr(VI) nas amostras de solos com emprego da técnica XANES	32
5.3 – Identificação de Cr(VI) nas amostras de solos com emprego da técnica EXAFS	36
5.4 – Elaboração dos sistemas de análise por injeção em fluxo	37
5.4.1 – Primeiro sistema de análise por injeção em fluxo	37
5.4.2 – Segundo sistema de análise por injeção em fluxo	40
5.4.3 – Terceiro sistema de análise por injeção em fluxo	43

5.5 – Determinações de Cr(III) e (VI) nas amostras de solos.....	45
5.5.1 – Análise da exatidão dos métodos de determinação de Cr(VI) com emprego de material de referência certificado	50
6 – CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXO 1	
ANEXO 2	

Capítulo 1

Introdução

1 – INTRODUÇÃO

Nos últimos anos estudos toxicológicos e bioquímicos têm demonstrado que o estado de oxidação em que um determinado elemento é introduzido no ambiente é importante para organismos vivos. Nesse contexto, o crescente interesse pela avaliação qualitativa e análise quantitativa de espécies de metais é proveniente do aumento da conscientização a respeito da dependência entre a toxicidade de metais e suas formas químicas específicas [1].

O interesse pela especiação redox do elemento crômio está relacionado com as diferenças existentes entre suas espécies mais abundantes e estáveis, Cr(III) e Cr(VI). Essas apresentam diferentes propriedades físico-químicas, já que o Cr(III) é considerado essencial para o funcionamento adequado dos organismos vivos, atuando no controle do metabolismo dos lipídios e da glicose em mamíferos, enquanto que o Cr(VI) exerce efeitos tóxicos graves em sistemas biológicos, sendo responsável por uma série de problemas clínicos relacionados à pele e ao sistema respiratório em seres humanos [2,3].

O extensivo uso do Cr em processos industriais levou à União Européia a estabelecer uma série de diretivas e recomendações nos anos mais recentes, com o objetivo de limitar e regular a presença de Cr(VI) no ambiente e proteger os trabalhadores nas indústrias e os usuários finais de produtos manufaturados. Sendo assim, novos métodos de padronização e procedimentos analíticos de determinação de Cr(VI) em diferentes tipos de matrizes sólidas como solos, cimentos, materiais para embalagens, sedimentos, dentre outros, têm sido propostos por países membros do bloco econômico [4]. No cenário nacional, mais especificamente em relação ao estado de São Paulo, foram definidos valores orientadores do elemento em sua forma total para solos e águas subterrâneas, entretanto o mesmo não foi feito para a espécie Cr(VI) [5].

Dessa maneira, a determinação de Cr(VI) em amostras ambientais como solos é um importante parâmetro de avaliação do nível de contaminação em um determinado ambiente, podendo ser utilizado como uma ferramenta útil no monitoramento ambiental e em programas de avaliação que buscam estratégias de recuperação de locais contaminados.

Tendo em vista a necessidade da determinação da espécie tóxica Cr(VI), neste trabalho foi realizada a especiação redox de Cr em amostras de solos

contaminados. Para a identificação de Cr(VI) nas amostras foram utilizadas técnicas de espectroscopia de absorção de raios X com radiação síncrotron. O método de preparo de amostra empregado para a determinação de Cr(VI) foi a extração alcalina e o teor de Cr(VI) foi determinado utilizando um espectrofotômetro de absorção molecular na região do ultravioleta-visível acoplado a um sistema de análise por injeção em fluxo para introdução dos reagentes. Difenilcarbazida foi empregada como reagente colorimétrico. Os resultados obtidos com o sistema de análise por injeção em fluxo foram comparados e criticamente discutidos com as análises em batelada. Foi também realizada a determinação do teor de Cr pseudototal através do uso do espectrômetro de absorção atômica com chama após digestão ácida das amostras, sendo possível então calcular o teor de Cr(III) pela diferença entre as concentrações de Cr pseudototal e de Cr(VI).

Capítulo 2

Objetivo

2 – OBJETIVO

A proposta deste trabalho é a combinação das estratégias analíticas espectroscopia de absorção de raios X (XAS, *X-ray absorption spectroscopy*), espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS, *Flame atomic absorption spectrometry*) e espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) para a identificação e determinação de Cr(III) e (VI) em solos contaminados.

Capítulo 3

Revisão

Bibliográfica

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 – O elemento crômio

O Cr é o vigésimo primeiro elemento mais abundante na crosta terrestre, em massa, sendo quase tão abundante quanto o Cl. É também o vigésimo quarto elemento da tabela periódica, situado entre o V e o Mn, e apresenta um peso atômico médio igual a 52. O único minério de Cr de importância comercial é a cromita (FeCr_2O_4). A cromita apresenta um leve brilho e um aspecto semelhante ao do piche, mas com tons castanhos, e pode ter alguma propriedade magnética [2,6].

Este elemento pode ser obtido de duas formas: ferrocrômio, uma liga de Fe, Cr e C, obtida pela redução da cromita com C, e Cr metálico puro, dependendo do uso a que se destina. Na indústria o Cr é produzido em larga escala e apresenta diversas aplicações, como na indústria metalúrgica para a produção de aços inoxidáveis e ligas ferrosas e não-ferrosas, na indústria química para a fabricação de pigmentos e, por fim, na indústria de refratários para a produção de tijolos [2,3].

O Cr possui estados de oxidação que variam de Cr(0) a Cr(VI), porém as espécies mais abundantes e estáveis são Cr(III) e Cr(VI). Essas espécies apresentam diferenças não apenas com relação ao estado de oxidação, mas também às propriedades físico-químicas e à reatividade química e bioquímica. A espécie Cr(III) é considerada essencial para o funcionamento adequado dos organismos vivos, sendo responsável pelo controle do metabolismo dos lipídios e da glicose em mamíferos. Em caso de deficiência de Cr(III), a velocidade de remoção da glicose do sangue reduz-se à metade da normal; além disso, alguns casos de diabetes podem decorrer de problemas no metabolismo do Cr(III) [2,3].

Por outro lado, o Cr(VI) exerce efeitos tóxicos graves em sistemas biológicos, sendo que se verificou que a exposição ocupacional aos compostos de Cr(VI) pode levar a uma série de problemas clínicos. Por exemplo, o contato da pele com estes compostos pode causar doenças como alergias, dermatite e necrose cutânea. Além disso, a retenção e inalação destes compostos podem levar a pneumonia, asma, bronquite, inflamação da laringe e do fígado, além de um aumento na incidência de câncer de pulmão. As propriedades tóxicas dos compostos de Cr(VI) são provenientes de seu forte potencial oxidativo, da livre

difusão através das membranas celulares e da formação de radicais livres durante o processo de redução do Cr(VI) a Cr(III) ocorrido no interior das células [3].

3.1.1 – Ocorrência de cromo em solos

A presença do elemento Cr em solos naturais é originária do desgaste sofrido por seus materiais de origem, e fatores como a lavagem e a precipitação de partículas que contém Cr, além da presença de resíduos gerados pelas atividades industriais que empregam este elemento, podem causar o aumento de sua concentração em solos [3].

A forma predominante de Cr é dependente do pH do meio: em pH menor que 4, ou seja, em solos ácidos, está presente na forma de $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$; já em pH maior que 4 e menor que 5,5 estão presentes os produtos provenientes do processo de hidrólise, principalmente na forma de $[\text{CrOH}]^{2+}$. No solo, reações de oxidação e de redução convertem Cr(III) a Cr(VI) e vice-versa. Esses processos dependem de fatores como concentração de gás oxigênio, pH, além da presença de agentes redutores apropriados e de compostos mediadores que podem atuar como ligantes ou catalisadores [3].

Considerando-se que as atividades antrópicas são a principal fonte de contaminação de Cr em solos, bem como o fato do Cr e seus compostos serem empregados em diversos processos industriais e a espécie Cr(VI) possuir uma alta toxicidade em relação ao Cr(III), a preocupação com os efluentes gerados pelas indústrias e com o uso de substâncias tóxicas nos produtos tornou-se crescente. Nesse contexto, estão sendo estabelecidos limites de concentração específicos para Cr(VI) em diferentes matrizes sólidas como solos, cimentos, componentes de automóveis, partículas atmosféricas e resíduos sólidos [7].

Por exemplo, no Canadá é tolerado até $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cr(VI) em solos destinados à residências e agricultura; para solos destinados à fins comerciais e industriais a concentração limite é de $1,4 \text{ mg kg}^{-1}$. Já na Itália é permitida a concentração limite de 15 mg kg^{-1} para solos destinados à indústria. A Suécia sugere um limite de 5 mg kg^{-1} para Cr(VI) e, por fim, nos Estados Unidos da América os limites podem variar entre os diferentes estados, sendo que no estado de Maryland, por exemplo, a concentração máxima permitida é igual a 23 mg kg^{-1} para solos residenciais [7].

Com relação ao estado de São Paulo a CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental) estabeleceu, através da Decisão de Diretoria nº 195-2005- E de 23 de novembro de 2005, os Valores Orientadores para solos e águas subterrâneas. Esses correspondem às concentrações de substâncias químicas utilizadas como referência nas ações de prevenção da poluição do solo e das águas subterrâneas e de controle de áreas contaminadas [5].

Para o elemento Cr em solos o Valor de Referência de Qualidade, definido como a concentração que define um solo como limpo, é igual a 40 mg kg^{-1} ; já o Valor de Prevenção de 75 mg kg^{-1} é definido como a concentração de Cr acima da qual podem ocorrer alterações prejudiciais à qualidade do solo. Por fim, o Valor de Intervenção representa a concentração acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, e nesse caso concentrações de 150, 300 e 400 mg kg^{-1} de Cr são estabelecidas para cenários de exposição Agrícola-Área de Proteção Máxima, Residencial e Industrial, respectivamente [5]. Deve-se salientar que a CETESB não faz menção às espécies de Cr presentes no solo, mas apenas à concentração total deste elemento.

3.2 – Análise de especiação elementar

A especiação elementar é definida pela IUPAC (*Internacional Union of Pure and Applied Chemistry*) como a distribuição das espécies químicas definidas de um elemento em um sistema, sendo espécie química, por sua vez, a forma específica de um elemento químico com relação, por exemplo, à sua estrutura molecular ou estado de oxidação. Já a análise de especiação é definida como a atividade analítica de identificação e quantificação de espécies químicas [8].

A comunidade científica passou a compreender nas últimas décadas que as informações adquiridas a partir da determinação da concentração total dos elementos não trazem conhecimento suficiente a respeito da mobilidade, da biodisponibilidade e do impacto que os elementos químicos podem causar em organismos biológicos ou sistemas ecológicos. Dessa maneira, a análise de especiação é importante para fornecer informações mais completas sobre a essencialidade ou toxicidade de espécies químicas, bem como para trazer um melhor entendimento dos processos químicos e bioquímicos que envolvem essas espécies [9]. Atualmente, do ponto de vista de sensibilidade, a análise de

especação é considerada a última fronteira na análise de elementos traço e um grande desafio em química analítica, já que envolve a quantificação de analitos em concentrações baixas e a distinção de diferentes espécies de um mesmo elemento químico [10].

Alguns exemplos que ilustram a importância da análise de especação envolvem espécies de As, Cu e Hg. Para o elemento As, formas inorgânicas como As(III) e As(V) são tóxicas; as espécies metiladas desse elemento apresentam uma menor toxicidade e, por fim, a espécie orgânica arsenobetaína não é metabolizada e é relativamente não-tóxica. Já íons de Cu(II) são conhecidos por exercerem efeitos tóxicos especialmente em sistemas aquáticos, enquanto que complexos húmicos deste elemento são geralmente não-tóxicos. Por fim, sais inorgânicos de Hg apresentam menos riscos do que suas formas metiladas, embora as espécies de Hg sejam geralmente tóxicas [8,9].

A análise de especação é caracterizada pelas seguintes etapas: amostragem, preparo de amostra, determinação das espécies de interesse e tratamento dos dados obtidos [8]. Assim como para as etapas envolvidas nas análises totais de elementos, estas devem ser cuidadosamente planejadas, em especial as duas primeiras etapas, já que a obtenção de dados confiáveis na análise química depende essencialmente de amostragem e de procedimentos de preparo de amostra adequados [11].

A etapa de preparo de amostra é considerada a mais difícil na análise química, por consumir aproximadamente 60 % do tempo total da análise e ser responsável pela inserção de até 50 % dos erros. Essa porcentagem pode ser ainda maior quando se refere ao preparo de amostra para especação, já que caso a distribuição da espécie de interesse seja heterogênea, a concentração do analito baixa ou a matriz complexa, serão necessárias etapas adicionais como pré-concentração do analito. Essas etapas extras podem contribuir para introduzir mais erros no procedimento proposto [12].

Dessa maneira, para que resultados confiáveis sejam obtidos algumas precauções devem ser tomadas. Por exemplo, são recomendadas condições de extração mais brandas possíveis para remoção da espécie de interesse da matriz da amostra. Em contrapartida, devem ser evitadas condições fortemente oxidantes como as que são empregadas para análises totais de elementos. Assim, evita-se a

ocorrência de erros indesejáveis como contaminações e degradação da espécie por mudanças no estado de oxidação [11].

3.2.1 – Preparo de amostra para determinação de Cr(VI) em solos

Diversos métodos de preparo de amostra que visam à determinação de Cr(VI) em amostras de solos foram descritos na literatura. Comumente é empregada a extração em meio alcalino, sendo esta considerada mais eficiente que a extração ácida por garantir a estabilidade e uma melhor solubilidade dos compostos de Cr(VI). Além disso, neste meio são minimizadas possíveis interferências provenientes de interconversões entre formas redox de Cr, bem como de transformações envolvendo outros metais [7].

No ano de 1995 JAMES et al. [13] compararam diferentes métodos para extração de compostos solúveis e insolúveis de Cr(VI) em amostras de solos. Essas foram fortificadas com soluções de Cr(III) e (VI) e quatro diferentes extratores foram utilizados no preparo de amostra, sendo esses água destilada (pH 5,7), tampão fosfato $5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_2\text{HPO}_4 - 5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$ (pH 7), solução constituída por Na_2CO_3 $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 11,8) sem e com aquecimento e NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 13) com sonicação. Após a extração as concentrações de Cr(VI) foram determinadas pelo método do reagente difenilcarbazida, bem como as porcentagens de recuperação de Cr(VI) nas amostras fortificadas. Os autores concluíram que o procedimento que empregou solução extratora constituída por Na_2CO_3 $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, além de agitação contínua e aquecimento por 60 min a 90-95 °C, foi o mais eficiente para extração de Cr(VI), já que os processos de interconversão são minimizados e a dissolução dos compostos de Cr é máxima.

A USEPA (*United States Environmental Protection Agency*) [14] baseou-se nos trabalhos desenvolvidos por JAMES et al. para propor o método revisado 3060A, empregado na determinação de Cr(VI) em solos, lodo de esgoto, sedimentos e materiais residuais similares. Nesse método 2,5 g de amostra é colocado em um frasco de digestão, sendo então adicionados 50 mL de solução extratora constituída por Na_2CO_3 $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, além de 400 mg de MgCl_2 e 0,5 mL de tampão fosfato $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ K}_2\text{HPO}_4 - 0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$ (pH 7), e a digestão alcalina realizada por 60 min a 90-95 °C. A adição de Mg^{2+} em

tampão fosfato à solução extratora é recomendada para prevenir riscos de oxidação do Cr(III). As determinações de Cr(VI) devem ser realizadas empregando técnicas que tenham boa precisão e exatidão, como o método do reagente difenilcarbazida e a cromatografia iônica.

PANICHEV et al. [15] investigaram o emprego de solução de Na_2CO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para extração de Cr(VI) em amostras de solos que foram coletadas em uma mina onde era realizada a exploração do elemento Cr. Para isso 25 mL de solução extratora foram adicionados a 0,25 g de amostra e a mistura foi aquecida até a ebulição por 10 min. Os precipitados foram então filtrados com papel de filtro Whatman nº 540, lavados com Na_2CO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ por diversas vezes, e os volumes finais das soluções das amostras foram ajustados para 25 mL com água desionizada. Os autores também verificaram a utilização de CO_2 como agente químico natural para extração de Cr(VI) em solos, através do borbulhamento do gás por períodos que variaram entre 5 min e 24 h, em 0,25 g de solo com 25 mL de água desionizada previamente submetidos à agitação periódica por no mínimo 24 h. A espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS, *Electrothermal atomic absorption spectrometry*) foi utilizada para as determinações de Cr(VI) nas amostras.

Por fim, em 2008 MATOS et al. [16] também utilizaram solução de Na_2CO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, além de aquecimento sob ebulição em banho de areia por 10 min, para extração de Cr(VI) em amostras de solo acidentalmente contaminadas com resíduos de solução sulfocrômica, sendo as determinações de Cr(VI) realizadas pelo método do reagente difenilcarbazida. Visando também a determinação das concentrações de Cr(III) nas amostras, pela diferença entre as concentrações de Cr total e Cr(VI), foi realizada a digestão ácida das amostras para análise total do elemento, e posterior determinação por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, *Inductively coupled plasma optical emission spectrometry*). Os autores afirmaram que não foi possível quantificar Cr(VI) nas amostras, já que as concentrações ficaram todas abaixo do limite de detecção do método, igual a $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$. Esses resultados foram atribuídos à redução do Cr(VI) a Cr(III) pela matéria orgânica presente no solo, anteriormente ao processo de análise realizada.

3.3 – Espectrometria de absorção atômica com chama

O princípio fundamental da espectrometria de absorção atômica (AAS, *Atomic absorption spectrometry*) consiste na medida da absorção da intensidade da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de radiação, por átomos gasosos no estado fundamental. O processo mais importante que ocorre em um espectrômetro de absorção atômica é a atomização, que consiste na produção de átomos gasosos no estado fundamental, e os dois tipos de atomizadores mais utilizados nesta técnica são a chama e o forno de grafite [17].

A técnica de espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) utiliza a chama como atomizador e nesta ocorrem basicamente os seguintes eventos: uma solução da amostra é nebulizada por um fluxo de oxidante gasoso, mistura-se com um combustível gasoso e é levada à chama, onde ocorre um conjunto complexo de processos inter-relacionados que resultam na atomização. O primeiro processo é a dessolvatação, na qual o solvente evapora produzindo um aerossol molecular de partículas sólidas pequenas. A dissociação da maior parte dessas moléculas resulta em átomos no estado gasoso e alguns desses átomos assim formados ionizam gerando cátions e elétrons. Também são produzidos outros átomos e moléculas na chama como resultado das interações do combustível com o oxidante e com as várias espécies presentes na amostra [17].

A FAAS é uma das mais bem-sucedidas técnicas analíticas implementadas, apresentando como principais vantagens a versatilidade e o baixo custo para aquisição e operação, em comparação com outras técnicas analíticas [18]. Por outro lado, possui desvantagens no que se refere à eficiência de amostragem, já que apenas 5 a 10 % da amostra aspirada são introduzidas na chama, e o restante descartado. Além disso, apresenta problemas relacionados à sensibilidade, pois é empregada para análises elementares em níveis de mg L^{-1} [17].

3.4 – Espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

A espectrofotometria de absorção molecular está baseada na medida da transmitância T ou absorbância A de soluções contidas em células transparentes com um caminho óptico de b cm. A concentração c de um analito absorvente está

relacionada linearmente à absorvência A conforme representado pela equação 3.1, a qual é uma representação matemática da Lei de Beer [17].

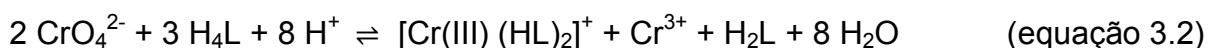
$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad (\text{equação 3.1})$$

Onde: A = absorvência, T = transmitância, P_0 = potência de radiação incidente, P = potência de radiação transmitida, ϵ = absorvência molar, b = caminho óptico e c = concentração do analito absorvente.

Medidas de absorção da radiação ultravioleta e visível têm ampla aplicação na identificação e determinação quantitativa de uma grande variedade de espécies inorgânicas e orgânicas [17]. Além disso, a técnica apresenta vantagens para a determinação de elementos em concentrações em nível de traços devido à boa sensibilidade, reprodutibilidade, facilidade de operação e seletividade para diferentes estados de oxidação de um mesmo elemento [19].

A técnica de espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta-visível é utilizada para a determinação de Cr(VI) em amostras através de reação com o reagente difenilcarbazida. Este é considerado um dos melhores métodos colorimétricos para a determinação de Cr(VI), pois a reação é rápida e seletiva e o ligante, sob condições ácidas adequadas, pouco reage com outros metais de transição [20].

Em meio ácido, a difenilcarbazida é oxidada a difenilcarbazona e a espécie Cr(VI), por sua vez, é reduzida a Cr(III) pela difenilcarbazida. A reação resulta em um complexo de coloração violeta intenso e característico, provavelmente formado entre o Cr(III) e a difenilcarbazona, conforme pode ser visto na equação 3.2 [20,21].



Com relação à equação 3.2, H_4L representa a difenilcarbazida, H_2L a difenilcarbazona e o Cr(VI) está presente na forma do ânion cromato. O complexo formado pode ser medido espectrofotometricamente entre 540 e 550 nm, intervalo de comprimento de onda em que sua absorvência molar (igual a $4,3 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) é alta, e um limite de detecção de $0,005 \text{ mg L}^{-1}$ foi relatado [20-22].

É importante salientar que a reação direta do Cr(III) com a difenilcarbazona em meio aquoso é difícil de ocorrer e não forma nenhum outro complexo que poderia interferir na análise. Além disso, os riscos de interferência durante a determinação colorimétrica são minimizados, já que complexos formados entre outros elementos e a difenilcarbazona têm coloração distinta daquele que envolve o reagente e a espécie Cr(VI) [20].

3.5 – Métodos de análise automatizados

Ao longo das últimas seis décadas, ocorreu uma considerável evolução das técnicas empregadas para análise elementar, desde os clássicos métodos de volumetria, gravimetria e eletrogravimetria, até os métodos espectroscópicos e outros mais recentes. Além disso, o desenvolvimento da química analítica instrumental moderna foi fortemente influenciado pela crescente demanda para obtenção de informações analíticas de maneira rápida, em que um grande número de analitos deve ser determinado em baixas concentrações em diferentes tipos de amostras [23].

Dessa maneira, uma clara tendência nos laboratórios é a eliminação parcial ou até completa da interação humana no que se refere às técnicas analíticas, de modo que métodos de análise automatizados, e anteriormente considerados de alta complexidade, são atualmente programados para serem operados por máquinas, sendo altamente repetitivos e independentes do erro do operador [23].

No entanto procedimentos analíticos controlados pelo computador, quando empregados para amostras cuja composição varia significativamente, podem não funcionar de modo adequado, o que leva a erros os quais o computador não é capaz de corrigir. Dessa maneira, é de extrema importância que o analista compreenda os processos envolvidos nas medidas realizadas, o que determina a diferença entre a obtenção de dados confiáveis ou não [23].

3.5.1 – Análise por injeção em fluxo

No sentido de automatizar ou pelo menos simplificar procedimentos, além de resolver diversos problemas analíticos específicos, algumas inovações adequadas para a análise de diferentes tipos de amostras têm sido desenvolvidas [23].

Dentre estas inovações está a análise por injeção em fluxo (FIA, *Flow injection analysis*), que se baseia na injeção de uma amostra líquida em um fluxo contínuo de um líquido apropriado, o carregador. A amostra injetada forma uma zona, chamada zona de amostra, a qual será transportada para uma célula em fluxo, onde um detector faz o registro contínuo da absorbância ou de algum outro parâmetro desejado [24]. É então obtido um fiograma, um gráfico de sinal analítico em função do tempo, de maneira que o sinal é proporcional à altura do pico presente.

Operações que empregam sistemas de análise por injeção em fluxo são bastante versáteis, já que os líquidos podem ser misturados, separados e recombinados e, dessa maneira, fornecem a forma mais flexível para automatização de operações em análises químicas [23]. Além disso, o consumo de amostra é mínimo (requer menos de 400 μL de amostra), a frequência de amostragem é alta (tipicamente 100 a 300 amostras/h), além do tempo de resposta ser bom (geralmente menos de 1 min entre a injeção da amostra e a resposta do detector) [17,25]. Esta última consideração é dependente da velocidade da reação que está sendo monitorada.

A análise por injeção em fluxo encontra aplicação em campos diversos, tais como o controle de processos industriais e a determinação de rotina de uma grande quantidade de espécies no ar, na água, nos solos e nos produtos agrícolas e farmacêuticos [17]. Entretanto, devido à complexidade da matriz de determinadas amostras, a técnica é inadequada para aplicação em materiais de alta viscosidade, sólidos, partículas e amostras constituídas por macromoléculas [23].

3.5.2 – Aplicação da análise por injeção em fluxo para determinação de Cr(VI)

Com relação a esta revisão bibliográfica realizada, a grande maioria dos trabalhos emprega a análise por injeção em fluxo para determinação de Cr(VI) em amostras aquosas, não sendo encontrados trabalhos que utilizam amostras de solos.

Por exemplo, ANDRADE et al. [26] desenvolveram um sistema de análise por injeção em fluxo acoplado a um espectrofotômetro para determinação de Cr(VI) pelo método da difenilcarbazida. O principal objetivo do trabalho foi verificar

como a variação no tipo e na concentração do ácido empregado para a obtenção do pH da reação entre Cr(VI) e difenilcarbazida poderia interferir na velocidade da reação de formação do complexo. Para isso, foram utilizados quatro diferentes ácidos (HCl, HNO₃, HClO₄ e H₂SO₄) em concentrações que variaram entre 0,1 e 1,5 mol L⁻¹, além de solução padrão de Cr(VI) 0,8 µg mL⁻¹ e difenilcarbazida 0,05 % (m v⁻¹). Os autores concluíram que as melhores condições de trabalho foram alcançadas com o uso de HNO₃ na concentração de no mínimo 0,8 mol L⁻¹, embora o H₂SO₄ seja convencionalmente empregado no método. Além disso, afirmaram que a cinética da reação de formação do complexo entre Cr(VI) e difenilcarbazida é mais lenta quando são utilizados ácidos em concentrações baixas. O limite de detecção obtido para o método foi igual a 15 ng mL⁻¹.

PANNAIN e SANTELLI [27] propuseram um sistema de análise por injeção em fluxo para determinação espectrofotométrica de Cr(VI) constituído por uma minicoluna de alumina ativada para pré-concentração *online* da espécie. Nesse sistema o Cr(VI), após ser retido pela minicoluna, misturou-se com solução eluente de NH₄OH 0,1 mol L⁻¹, reagiu com difenilcarbazida 0,05 % m v⁻¹ em meio previamente acidificado com HNO₃ 0,7 mol L⁻¹ e a absorbância do complexo formado foi medida em 540 nm. A interferência de espécies concomitantes no sistema foi estudada, e foi demonstrado que a presença dos íons SO₄²⁻ e PO₄³⁻ causou a redução ou até mesmo a eliminação dos sinais de Cr(VI). Os autores afirmaram que a afinidade da minicoluna por estas espécies em meio ácido gera uma competição entre elas e o Cr(VI), dificultando a retenção do analito de interesse. Para a injeção no sistema de volumes de solução padrão de Cr(VI) de 5, 25 e 50 mL, foram obtidos fatores de enriquecimento iguais a 44, 196 e 392, em comparação com o sistema de análise por injeção em fluxo sem pré-concentração. O método foi aplicado para a análise de águas naturais, porém a determinação de Cr(VI) não foi possível em todas as amostras devido à baixa concentração de Cr(VI) e à presença das espécies concomitantes.

Em 1997 WANG et al. [28] desenvolveram um método simples, rápido e sensível para determinação de Cr(VI) em amostras presentes em diversos locais de trabalho, utilizando extração ultrassônica e análise por injeção em fluxo. Inicialmente realizou-se a extração alcalina das amostras em banho ultrassônico empregando a solução tampão 0,05 mol L⁻¹ (NH₄)₂SO₄ – 0,05 mol L⁻¹ NH₃. O Cr(VI) extraído foi retido em uma resina de troca iônica utilizando como eluente solução de

0,5 mol L⁻¹ (NH₄)₂SO₄ – 0,1 mol L⁻¹ NH₃, seguido pela acidificação, reação com solução de difenilcarbazida 20 mmol L⁻¹ e determinação da espécie em um sistema de análise por injeção em fluxo acoplado a um espectrofotômetro UV-Vis. O método foi empregado para amostras de cinzas de carvão coletadas em uma usina de geração de energia e de lascas de tinta retiradas das paredes de um laboratório e de um prédio universitário, sendo possível determinar o Cr(VI) em grande parte destas. Os autores também destacaram a possibilidade de aplicação do método para a determinação de Cr total, utilizando sulfato de cério em meio ácido para oxidar Cr(III) a Cr(VI), bem como seu uso para análises de campo.

3.6 – Espectroscopia de absorção de raios X com radiação síncrotron

A espectroscopia de absorção de raios X (XAS) é fundamentada no chamado “efeito fotoelétrico”. Este efeito ocorre quando a absorção de um quantum de raios X provoca a ejeção de um dos elétrons mais internos de um átomo e a consequente produção de um íon excitado. A maior probabilidade de absorção ocorre quando o quantum de energia é exatamente igual à energia necessária para remover o elétron até exatamente a periferia do átomo [17].

Os raios X constituem uma radiação eletromagnética de comprimento de onda curto, sendo que a espectroscopia de raios X convencional utiliza raios X na região de 0,1 até 25 Å. Para propósitos analíticos, os raios X são obtidos de quatro formas: (1) pelo bombardeamento de um alvo metálico com um feixe de elétrons de alta energia, (2) pela exposição de uma substância a um feixe primário de raios X de forma a gerar um feixe secundário de fluorescência de raios X, (3) pelo uso de fontes radioativas artificiais cujo processo de decaimento resulta na emissão de raios X e (4) por uma fonte de radiação síncrotron [17].

A radiação síncrotron, por sua vez, é uma radiação eletromagnética produzida por elétrons de alta energia em um acelerador circular de partículas, de maneira que esta alta energia possibilita a determinação de elementos em baixas concentrações. A técnica analítica que utiliza esta radiação em processos de absorção ocorridos na região dos raios X é a espectroscopia de absorção de raios X com radiação síncrotron. Além dos raios X, uma ampla faixa do espectro

eletromagnético é abrangida pela radiação síncrotron, como o ultravioleta, a radiação visível e o infravermelho [29].

Esta radiação pode ser empregada na análise de processos físicos, químicos, geológicos e biológicos diversos, de maneira que as informações obtidas podem ser utilizadas, por exemplo, para produção de novos medicamentos, desenvolvimento de chips de computadores mais potentes, criação de novos materiais utilizados na fabricação de implantes médicos mais seguros, dentre outros [29].

Alguns países ao redor do mundo possuem fontes de radiação síncrotron, como a Alemanha (*Hamburg Synchrotron Radiation Laboratory*), os Estados Unidos da América (*Stanford Synchrotron Radiation Lightsource*) e a França (*European Synchrotron Radiation Facility*) [30], porém apenas uma destas fontes localiza-se no Hemisfério Sul, mais especificamente no Brasil, na cidade de Campinas (estado de São Paulo), o Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS). Neste centro de pesquisa a radiação síncrotron é gerada em um acelerador circular de partículas, chamado de anel de armazenamento de elétrons ou síncrotron [29], o qual pode ser visto na FIGURA 3.1.



FIGURA 3.1 - Fonte de radiação síncrotron do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, localizado em Campinas (SP).

No anel, este processo ocorre da seguinte maneira: eletroímãs e ondas de rádio frequência são utilizados para acelerar elétrons em velocidades próximas às da luz. O anel tem o formato de um polígono e é constituído por ímãs, de maneira

que conforme os elétrons passam através de cada um destes ímãs, sofrem perda de energia na forma de uma luz brilhante e altamente focalizada, a radiação síncrotron, e esta pode então ser utilizada pelos pesquisadores nos trabalhos desenvolvidos nas estações experimentais do LNLS, as chamadas linhas de luz [29].

3.6.1 – Técnicas de espectroscopia de absorção de raios X com radiação síncrotron

O espectro de absorção de raios X é tipicamente dividido em duas regiões, que consistem nas técnicas de espectroscopia de absorção de raios X com radiação síncrotron existentes: XANES (*X-ray absorption near edge structure*) e EXAFS (*Extended X-ray absorption fine structure*). Embora as duas técnicas apresentem a mesma origem física, essa distinção é bastante conveniente para a interpretação do espectro de absorção [31].

Utilizando como exemplo o espectro de absorção de raios X presente na FIGURA 3.2, e que se refere a uma amostra em pó de óxido de ferro (FeO), em que o metal possui estado de oxidação 2+, é possível verificar que a região de XANES situa-se na faixa de até 50 eV acima da borda de absorção principal, região caracterizada pelo aumento abrupto da absorção. Na figura, a borda de absorção se localiza por volta de 7,1 keV e se refere à saída dos elétrons do nível eletrônico 1s do Fe. Já na região compreendida pela EXAFS a absorção de energia ocorre na faixa de 50 até 1000 eV acima da borda de absorção, uma região caracterizada por oscilações mais suaves na absorção [31].

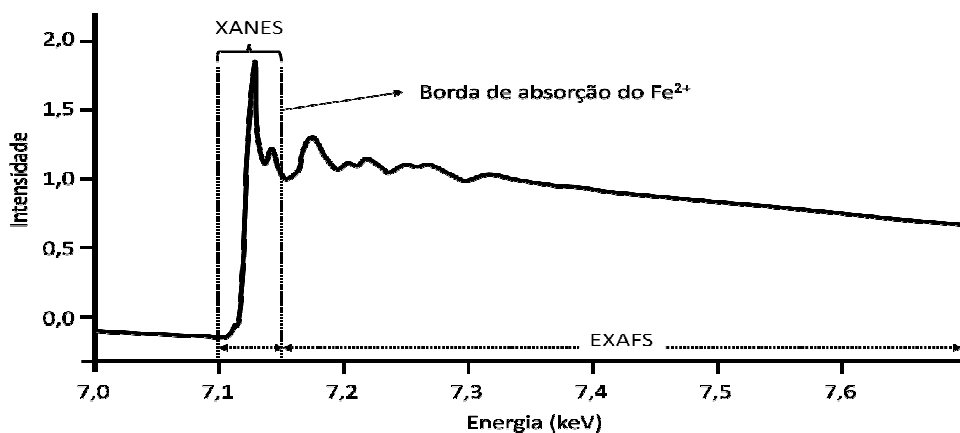


FIGURA 3.2 - Regiões de XANES e EXAFS para uma amostra de FeO.

Dentre as aplicações da técnica EXAFS, estão a utilização para a determinação do número de átomos vizinhos ao redor do átomo absorvedor, bem como da distância entre eles. Já o espectro XANES é empregado na obtenção de informações a respeito do estado de oxidação do átomo absorvedor e de sua geometria de coordenação [31].

Por exemplo, com o emprego da técnica é possível discernir as espécies de cromo, Cr(III) e Cr(VI), observando os diferentes perfis que estas apresentam em seus espectros de absorção. As FIGURAS 5.1 e 5.2, que podem ser visualizadas em seção posterior, representam espectros de soluções padrão de Cr(III) e (VI), respectivamente, tendo ambas concentração de 100 mg L^{-1} . As bordas de absorção de ambas as espécies ocorrem por volta de 6010 eV e, anteriormente à estas, existe uma região de pré-borda, a qual é drasticamente distinta para as duas espécies, de maneira que uma pré-borda bastante intensa é observada no espectro de Cr(VI) por volta de 5990 eV, mas não no de Cr(III). A pré-borda é consequência da presença de orbitais d não preenchidos na espécie, e sua altura é proporcional à concentração de Cr(VI) presente na amostra [31,32]. Os espectros representados nessas duas figuras foram obtidos durante os experimentos realizados no LNLS no mês de março de 2011, e mais detalhes sobre as condições experimentais serão discutidos em uma próxima seção.

Alguns trabalhos na literatura empregaram a técnica XANES para especiação de Cr. SHAFFER et al. [33] fortificaram 24 amostras de solos com soluções padrão de Cr(III) e (VI) em diferentes razões, de maneira que as concentrações finais de Cr total nas amostras variaram entre 8 e 1015 mg L^{-1} . Os autores assumiram que as únicas espécies de Cr presentes nas amostras seriam Cr(III) e (VI). Na sequência realizaram-se as leituras das amostras utilizando a técnica XANES e os espectros obtidos foram tratados para a obtenção de modelos de calibração multivariada utilizando a ferramenta PLS (*Partial Least Squares*). SHAFFER et al. afirmaram que houve uma boa correlação entre a porcentagem prevista de Cr(VI) e a porcentagem real desta espécie nas amostras de solos, sendo o valor de RMSECV (*root mean square error of cross validation*), uma medida da habilidade de previsão do modelo, igual a 6,1 %. O mesmo foi observado para a previsão das concentrações de Cr total, sendo o RMSECV nesse caso igual a $12,1 \text{ mg L}^{-1}$. Os autores também destacaram a presença da pré-borda característica de

Cr(VI) nos espectros das amostras fortificadas com altas concentrações desta espécie, bem como sua ausência em amostras que continham alto teor de Cr(III).

Já em 2003 HOWE et al. [34] propuseram um método para especificação de Cr em plantas empregando três diferentes técnicas, sendo elas XANES, micro fluorescência de raios X com radiação síncrotron e espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica. As amostras foram fortificadas com soluções de Cr(VI) em concentrações que variavam entre 0,04 e 2 mmol L⁻¹ e então colocadas em um meio hidropônico constituído de uma solução nutritiva para que assim se desenvolvessem. Após as medidas terem sido realizadas utilizando as três técnicas analíticas, as concentrações de Cr(VI) determinadas nas amostras estudadas foram comparadas com concentrações presentes em plantas que cresceram na ausência de Cr, e em meio de Cr(III) inorgânico e Cr(III) proveniente de fontes orgânicas. Com relação aos espectros XANES obtidos os autores concluíram que nas plantas fortificadas com menores concentrações de Cr(VI) ocorreu a redução da espécie para Cr(III), sendo esse processo um importante mecanismo de desintoxicação da planta.

Capítulo 4

Materiais e Métodos

4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Amostras

Neste trabalho foram utilizadas amostras de solo, coletadas ao redor da Estação Antártica Comandante Ferraz, estação científica brasileira instalada na Antártica Marítima. A justificativa para o emprego dessas amostras está relacionada à utilização de uma tinta à base de PbCrO_4 para a pintura da estação durante a sua construção, há aproximadamente 30 anos atrás. Fenômenos físicos e químicos ocorridos com a passagem do tempo podem ter causado a deposição do elemento Cr nos arredores da estação, e por esse motivo resolveu-se investigar a possível presença das espécies de Cr(III) e (VI) no solo desta região.

A coleta das amostras foi realizada pelo Dr. Marcelo Braga Bueno Guerra no ano de 2008, durante o desenvolvimento de sua tese de doutorado. De um total de 8 amostras, 6 foram coletadas em áreas com evidente impacto antrópico, próximas dos tanques de óleo diesel e do heliponto, e outras 2 amostras, chamadas de amostras controle, foram coletadas em áreas distantes até 4 km da estação.

No laboratório de pesquisa do Departamento de Química as amostras de solo foram secas a 60 °C em estufa (Qualxtron, São Paulo, Brasil), peneiradas para obtenção de um tamanho de partícula menor que 2 mm (Bertel, Caieiras, Brasil), moídas com auxílio de um moinho de facas (A11 BASIC, IKA[®], EUA) e, por fim, peneiradas novamente para obtenção de um tamanho de partícula menor que 212 μm .

Com o objetivo de avaliar a exatidão dos procedimentos analíticos desenvolvidos, também foram utilizadas amostras de dois materiais de referência certificados: para as determinações de Cr pseudototal, o BCR[®] - 146R, Bélgica (*sewage sludge from industrial origin*), com concentração certificada igual a $174 \pm 7 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cr, e para as determinações de Cr(VI) foi empregado o SRM[®] 2701, NIST, Estados Unidos da América (*hexavalent chromium in contaminated soil – high level*), com concentração certificada de Cr(VI) de $551,2 \pm 34,5 \text{ mg kg}^{-1}$. Os certificados de análise dos materiais de referência certificados podem ser visualizados em anexo.

4.2 – Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados neste trabalho apresentavam grau analítico. Para o preparo das amostras e diluições foi utilizada água ultra pura obtida a partir de um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Billerica, EUA). Todos os materiais foram descontaminados em banho de HNO₃ 10 % v v⁻¹ por 24 h e, em seguida, lavados com água ultra pura por alguns minutos.

Solução padrão estoque contendo 1000 mg L⁻¹ de Cr(VI) foi preparada dissolvendo-se 1,41 g do padrão primário K₂Cr₂O₇ (Synth), previamente seco à temperatura de 160 °C durante 2 h, em 500 mL de água desionizada. Solução padrão estoque contendo 1000 mg L⁻¹ de Cr(III) (Merck) também foi utilizada.

A solução de água régia foi preparada utilizando-se HCl (Merck) e HNO₃ (Merck) na proporção 3:1 (v v⁻¹). A solução extratora constituída por Na₂CO₃ 0,28 mol L⁻¹ e NaOH 0,5 mol L⁻¹ foi preparada dissolvendo-se 14,85 g de carbonato de sódio (Merck) e 10 g de hidróxido de sódio (Merck) em 500 mL de água desionizada. Já a solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ foi obtida dissolvendo-se 4 g de hidróxido de sódio em 1 L de água desionizada.

Para as determinações de Cr(VI) foram utilizados H₂SO₄ (Merck), HNO₃, solução carregadora constituída por água desionizada e acetona (Merck) e solução de difenilcarbazida. Esta era preparada diariamente dissolvendo-se 0,1 g de 1,5 – difenilcarbazida (Merck) em 2 mL de acetona e diluindo para 100 mL com água desionizada. A solução era mantida em um frasco âmbar para evitar a degradação do reagente pela ação da luz.

4.3 – Preparo de amostra e determinação de Cr pseudototal

O preparo de amostra para determinação das concentrações de Cr pseudototal foi realizado de acordo com a norma alemã DIN [35]. Para a etapa de pré-digestão das amostras de solo 3 mL de água régia foram adicionados a 300 mg de amostra em tubos de vidro em triplicata, e a mistura permaneceu em repouso por 12 h à temperatura ambiente. Após esse período, os tubos de vidro foram transferidos para um bloco digestor (Q-327M242, Quimis, São Paulo, Brasil) e a mistura foi submetida a uma etapa de aquecimento por 3 h a 120 °C. Durante a digestão funis de vidro foram utilizados para permitir o refluxo da mistura ácida. Após resfriamento os digeridos foram transferidos para frascos graduados, sendo o

volume final ajustado para 10 mL com água desionizada, e na sequência foram centrifugados (Hermle Z200A, Labnet, Woodbridge, EUA) por 10 min a 3500 rpm.

As concentrações de Cr pseudototal foram determinadas nas soluções sobrenadantes utilizando um espectrômetro de absorção atômica com chama (AA240FS, Varian, Mulgrave, Austrália) equipado com lâmpada de cátodo oco de Cr para as determinações deste elemento, operando em comprimento de onda de 357,9 nm e corrente elétrica de 7 mA. A correção de sinal de fundo foi realizada com emprego de lâmpada de deutério. A chama foi produzida pelos gases óxido nítrico e acetileno com vazões iguais a 10,24 e 6,63 L min⁻¹, respectivamente, e a resolução espectral foi de 0,2 nm.

4.4 – Preparo de amostra e identificação de Cr(VI)

Com base nas concentrações de Cr pseudototal determinadas nas amostras de solo, foi realizada a escolha das amostras que seriam utilizadas para a identificação de Cr(VI). Para essa avaliação qualitativa foi necessária a obtenção de extratos de Cr(VI), então se conduziu uma extração alcalina pesando-se 2 g de amostra de solo em frascos Erlenmeyer, 20 mL de solução extratora constituída por Na₂CO₃ 0,28 mol L⁻¹ e NaOH 0,5 mol L⁻¹ foram adicionados e a mistura foi colocada em uma chapa aquecedora (208-2 D, Nova Ética, São Paulo, Brasil), sendo realizada a extração por 60 min a 90 - 95 °C com agitação esporádica dos frascos [7,13]. Após resfriamento ajustou-se a massa dos extratos obtidos para 15 g com água desionizada, 10 mL destes foram transferidos para frascos graduados e, na sequência, centrifugados por 10 min a 3500 rpm.

Após o preparo de amostra os extratos foram levados ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), na cidade de Campinas (SP), para que fosse realizada a identificação de Cr(VI). A aquisição dos espectros de absorção de raios X foi feita em dois momentos diferentes: em uma primeira oportunidade, as medidas foram realizadas com o uso da técnica XANES, na linha de luz XRF do LNLS, e para estas leituras pipetou-se uma alíquota de 20 µL dos extratos em placas de carbeto de silício, esperou-se que as gotas formadas nas placas secassem à temperatura ambiente e os espectros XANES foram então adquiridos, sendo o tempo necessário para a obtenção de cada um destes de cerca de 1 h. As FIGURAS 4.1, 4.2 e 4.3 referem-se ao emprego dessa técnica no LNLS.



FIGURA 4.1 - Deposição das alíquotas de 20 μ L dos extratos nas placas de carbetto de silício.



FIGURA 4.2 - Linha de luz XRF do LNLS, onde foram realizadas as medidas de XANES.

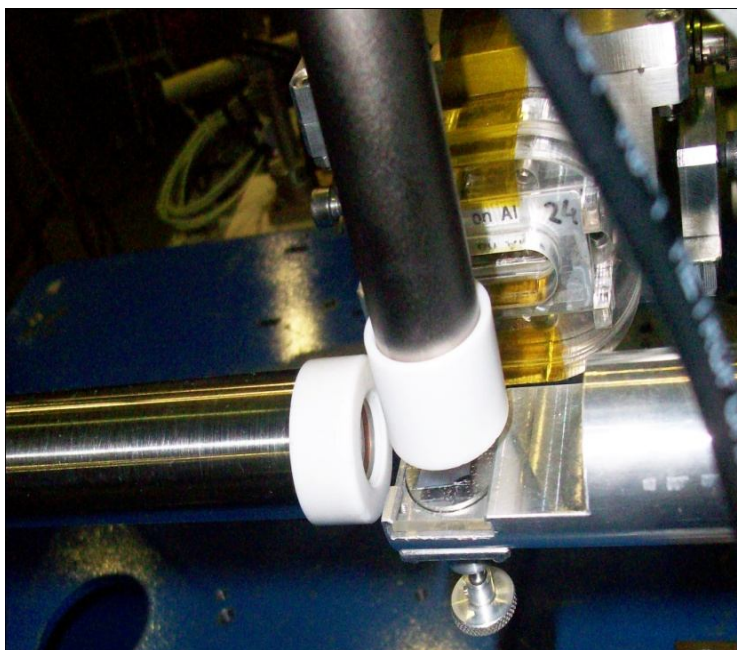


FIGURA 4.3 - Posicionamento das placas de carbeto de silício para as medidas de XANES.

Já em uma segunda oportunidade, a aquisição dos espectros foi feita utilizando-se a técnica EXAFS, na linha de luz XAFS-2 do LNLS, e nesse caso pipetou-se uma alíquota de 50 μL dos extratos em filmes Ultralene[®] de 4 μm de espessura (Spex Sample Prep, Metuchen, EUA), esperou-se que as gotas formadas secassem à temperatura ambiente, os filmes foram posicionados em um ângulo de 60 ° no equipamento e as medidas foram realizadas, sendo que nesse caso o tempo necessário para a obtenção dos espectros foi um pouco menor, de aproximadamente 45 min.

Para ambas as técnicas empregadas a faixa de varredura utilizada foi de 5888 a 5978 eV (com resolução de 2 eV), seguida de 5978 a 6068 eV (resolução de 0,5 eV) e, por fim, de 6068 a 6140 eV (resolução de 2 eV).

4.5 – Preparo de amostra e determinação de Cr(VI)

Visando à determinação das concentrações de Cr(VI) nas amostras de solo, empregou-se a extração alcalina como método de preparo de amostra, e esta foi realizada conforme descrito na seção anterior, entretanto utilizou-se desta vez 15 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹ como solução extratora [4,13].

A determinação dos teores de Cr(VI) foi realizada utilizando-se um espectrofotômetro de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (600 Plus, Femto, São Paulo, Brasil) contendo uma cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico, e este foi acoplado a um sistema de análise por injeção em fluxo para a introdução dos reagentes, constituído por bomba peristáltica com 8 canais e velocidade variável (IPC, Ismatec, Suíça) e injetor comutador confeccionado em acrílico. Foram utilizados como reagentes desse sistema solução de difenilcarbazida 0,1 % (m v⁻¹) como reagente colorimétrico, H₂SO₄ 0,2 mol L⁻¹ para ajuste do pH da reação entre Cr(VI) e difenilcarbazida, e solução carregadora constituída de água e acetona.

Como método comparativo, as determinações de Cr(VI) nas amostras de solo também foram realizadas utilizando apenas o espectrofotômetro, ou seja, em batelada, conforme é empregado no método convencional de determinação de Cr(VI) com o reagente difenilcarbazida. Nesse caso, um volume de 2 mL da solução sobrenadante do extrato de Cr(VI) foi retirado e transferido para um frasco graduado para reação com solução de difenilcarbazida 0,1 % (m v⁻¹). Então, 500 µL deste reagente foram adicionados à solução sobrenadante, o pH foi ajustado para 1 utilizando 700 µL de H₂SO₄ 0,2 mol L⁻¹ e, na sequência, as absorbâncias das soluções foram medidas.

Para ambos os métodos de determinação empregados, as medidas de absorbância foram realizadas com e sem a adição do reagente colorimétrico, já que as soluções sobrenadantes apresentavam uma ligeira coloração. Além disso, o comprimento de onda utilizado para as medidas nos dois métodos foi de 540 nm.

Capítulo 5

Resultados e Discussão

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – Determinações de Cr pseudototal nas amostras de solos

As concentrações de Cr pseudototal determinadas por espectrometria de absorção atômica com chama nas amostras de solos e no material de referência certificado utilizado, o BCR[®] - 146R (*sewage sludge from industrial origin*), bem como os respectivos desvios padrão (SD) e desvios padrão relativos (RSD), estão apresentados na TABELA 5.1.

TABELA 5.1 - Concentrações de Cr pseudototal nas amostras e respectivos desvios padrão e desvios padrão relativos (n = 6).

Amostra	Cr pseudototal (mg kg ⁻¹)	SD (mg kg ⁻¹)	RSD (%)
1	266	28	10,5
2	327	38	11,6
3	50,0	7	14,0
4	280	21	7,5
5	225	25	11,1
6	90,0	4	4,4
7	47,0	17	36,2
8	51,0	18	35,3
BCR [®] - 146R	185	26	14,1

Com relação às concentrações obtidas nas amostras de solos, é possível observar que estas variaram entre 47,0 e 327 mg kg⁻¹ de Cr pseudototal. Comparando-se com o Valor de Prevenção para Cr definido pela CETESB, igual a 75 mg kg⁻¹, verifica-se que cinco amostras apresentaram concentrações acima desse valor, o que indica uma possível contaminação por esse elemento.

Já os respectivos desvios padrão foram altos para a grande maioria das amostras, variando entre 4 e 38 mg kg⁻¹ e os desvios padrão relativos entre 4,4 e 36,2 %. A heterogeneidade das amostras é uma possível justificativa para os altos valores de desvios padrão obtidos. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para o método proposto foram iguais a, respectivamente, 7 e 24 mg kg⁻¹, e a curva de calibração apresentou coeficiente de correlação igual a 0,99 (n = 15).

Para avaliação da exatidão do método foi empregado material de referência certificado com concentração de $174 \pm 7 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cr pseudototal. O valor obtido foi de $185 \pm 26 \text{ mg kg}^{-1}$, o que corresponde a uma boa porcentagem de recuperação, igual a 106 %. Através do emprego do teste *t* de Student não-pareado, verificou-se que as concentrações não diferiram estatisticamente em um nível de confiança de 95 %, sendo 0,929 e 2,571 os valores de *t* calculado e tabelado, respectivamente, e 5 o número de graus de liberdade, para um número de réplicas igual a 6. É possível então verificar que o procedimento proposto apresenta adequada exatidão para a determinação de Cr pseudototal nas amostras de solos.

5.2 – Identificação de Cr(VI) nas amostras de solos com emprego da técnica XANES

Com relação ao uso da técnica XANES para identificação da espécie Cr(VI) nas amostras de solos, nas FIGURAS 5.1 e 5.2 é possível visualizar os espectros de absorção de raios X obtidos para soluções padrão de Cr(III) e (VI), respectivamente. Ambas as soluções apresentavam concentrações de 100 mg L^{-1} e foram preparadas em meio aquoso.

As bordas de absorção das espécies Cr(III) e (VI) podem ser visualizadas nos espectros correspondentes na região em torno de 6010 eV. Observa-se também a pré-borda indicativa da presença de Cr(VI) no espectro de absorção da solução padrão dessa espécie, que se localiza por volta de 5990 eV, e não é observada no espectro da solução padrão de Cr(III).

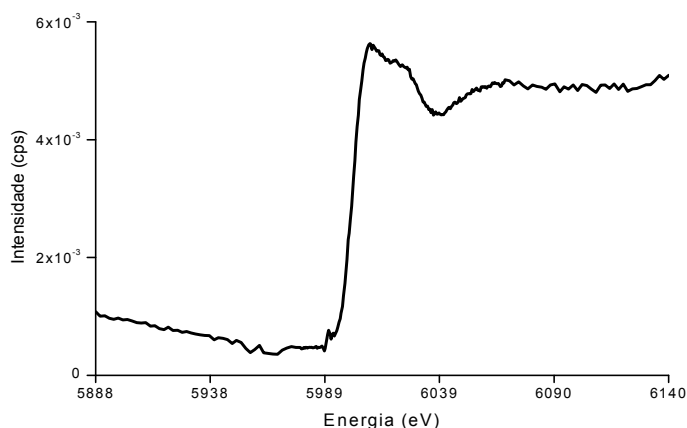


FIGURA 5.1 - Espectro de absorção de solução padrão de Cr(III) com concentração de 100 mg L^{-1} .

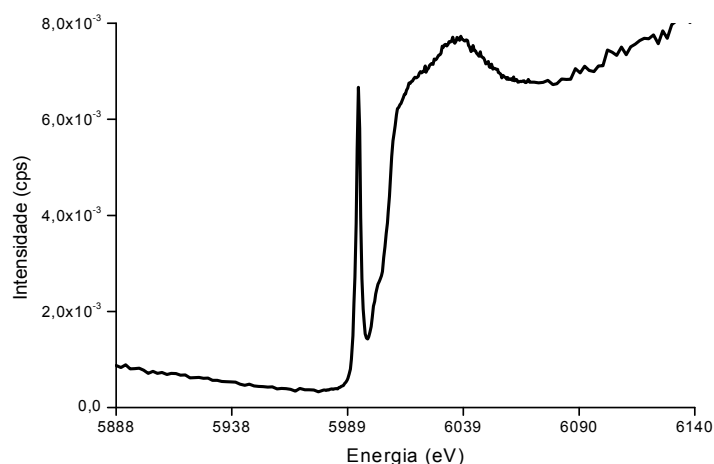


FIGURA 5.2 - Espectro de absorção de solução padrão de Cr(VI) com concentração de 100 mg L^{-1} .

O espectro obtido quando Cr(III) e (VI) são misturados em meio aquoso, com concentração de 100 mg L^{-1} para cada espécie, pode ser verificado na FIGURA 5.3. Novamente observa-se a borda de absorção característica destas espécies, bem como a pré-borda que identifica a espécie Cr(VI) antecedendo-a.

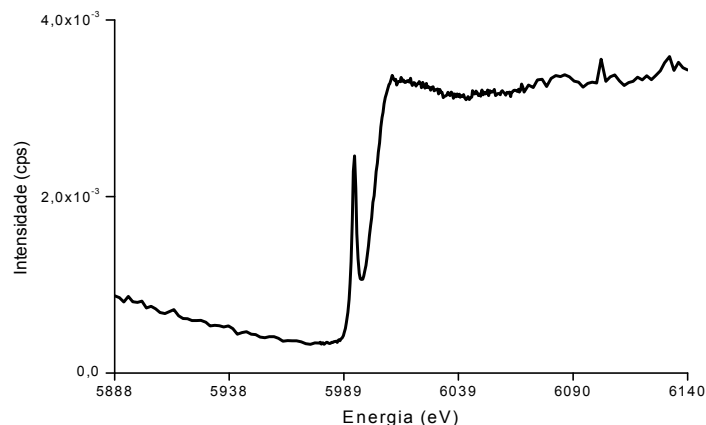


FIGURA 5.3 - Espectro de absorção de solução padrão de Cr(III) e (VI) com concentração de 100 mg L^{-1} para cada espécie.

Através da análise das figuras é possível verificar que, com relação às soluções padrão preparadas em meio aquoso, os espectros de absorção de raios X obtidos com o emprego da técnica XANES foram bastante adequados e condizentes com o que é reportado na literatura.

Entretanto, o mesmo não pode ser afirmado quando são analisados os espectros das soluções padrão e amostras que passaram pelo método de preparo

de amostra empregado, a extração alcalina com solução extratora constituída por Na_2CO_3 $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Por exemplo, a FIGURA 5.4 representa o espectro de absorção obtido para uma solução padrão de Cr(VI) com concentração de 1 mg L^{-1} . A borda de absorção do Cr(VI) não foi visualizada, bem como a pré-borda característica da espécie.

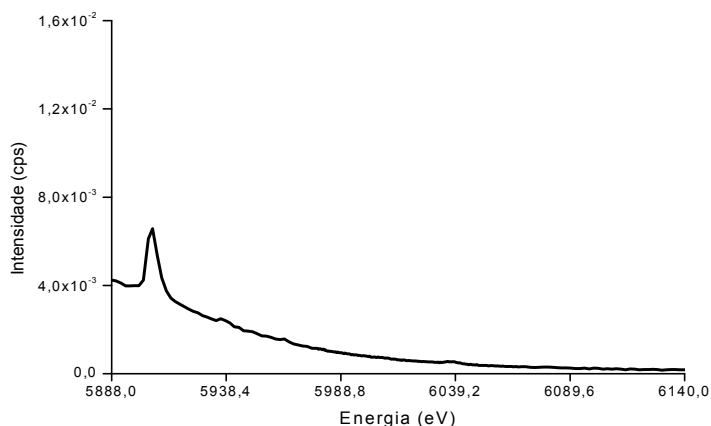


FIGURA 5.4 - Espectro de absorção de solução padrão de Cr(VI) com concentração de 1 mg L^{-1} .

Através da análise das FIGURAS 5.5 e 5.6, sendo a primeira correspondente ao espectro da amostra 3 sem adição de solução padrão de Cr(VI) e a segunda com adição de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ desta espécie, também é possível verificar que a borda de absorção do Cr(VI) e sua pré-borda não são identificadas, mesmo quando esta espécie é adicionada na amostra. A amostra 3 foi coletada nas proximidades dos tanques de óleo diesel e do heliponto da Estação Antártica Comandante Ferraz.

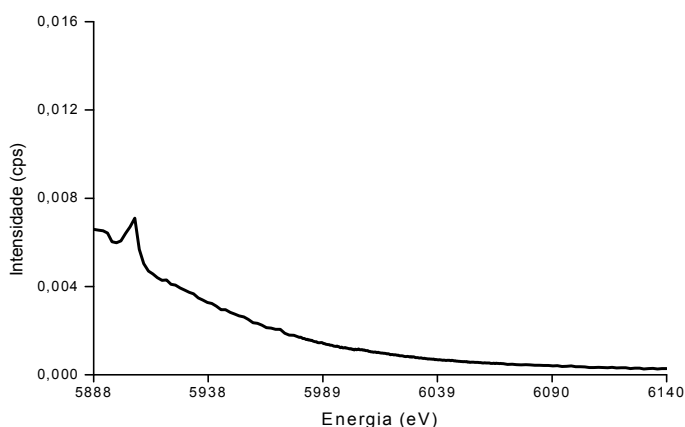


FIGURA 5.5 - Espectro de absorção da amostra 3 sem adição de Cr(VI) .

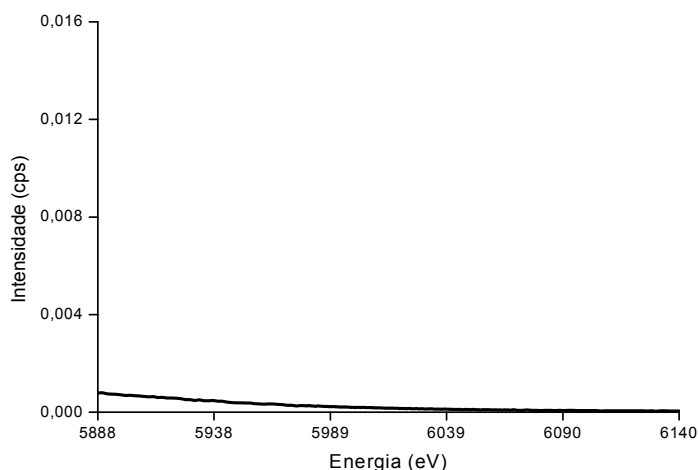


FIGURA 5.6 - Espectro de absorção da amostra 3 com adição de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Cr(VI).

Os espectros XANES obtidos para as soluções padrão e amostras preparadas em meio básico foram considerados inconclusivos, além de serem discordantes em comparação com o que é descrito na literatura a respeito dos diferentes perfis que as espécies Cr(III) e (VI) apresentam no espectro de absorção de raios X [31,33]. Dessa maneira, não foi possível extrair qualquer tipo de informação a respeito da presença de Cr(VI) nas amostras de solos empregando a técnica XANES.

Um provável motivo da impossibilidade de identificação da espécie é a ocorrência de interferências anteriores à realização das medidas já que, após a secagem das gotas dos extratos nas placas de carbeto de silício, foi observada a formação de um depósito cristalino não-uniforme, possivelmente originário da alta concentração de sódio na solução extratora empregada. Com isso, a penetração do feixe de radiação nos extratos foi dificultada e as medidas não puderam ser realizadas de maneira satisfatória. Essa justificativa é coerente, pois na técnica XANES a intensidade da energia medida pelo detector é descrita pela espessura da amostra e pelo coeficiente de absorção μ , de maneira que, se a amostra é preparada uniformemente, o sinal analítico está linearmente relacionado com a concentração de um elemento ou de uma determinada espécie na amostra [33].

Além disso, o insucesso nas análises de XANES pode estar relacionado ao fato de que análises realizadas posteriormente com as amostras mostraram que as concentrações de Cr(VI) eram extremamente baixas (conforme será descrito em seção posterior), embora as concentrações de Cr pseudototal

fossem altas, como pôde ser verificado na seção 5.1. Essa característica das amostras de solos não era conhecida quando o projeto foi submetido para utilização das instalações do LNLS, e nem quando foi realizada a etapa de identificação de Cr(VI).

5.3 – Identificação de Cr(VI) nas amostras de solos com emprego da técnica EXAFS

Considerando-se os resultados insatisfatórios obtidos com a técnica XANES, procedeu-se com o uso da técnica EXAFS para a identificação de Cr(VI) nas amostras de solos, em uma segunda oportunidade no LNLS. Nessa técnica a possibilidade de variação do ângulo de incidência do feixe de radiação permite uma melhor penetração desse nos extratos e, conseqüentemente, possibilita a obtenção de mais informações a respeito da possível presença de Cr(VI) nas amostras. As FIGURAS 5.7 e 5.8 representam os espectros obtidos para a amostra 3, sem e com adição de solução padrão de Cr(VI) com concentração final de 1 mg L^{-1} , respectivamente, sendo essa adição realizada antes da etapa de preparo de amostra.

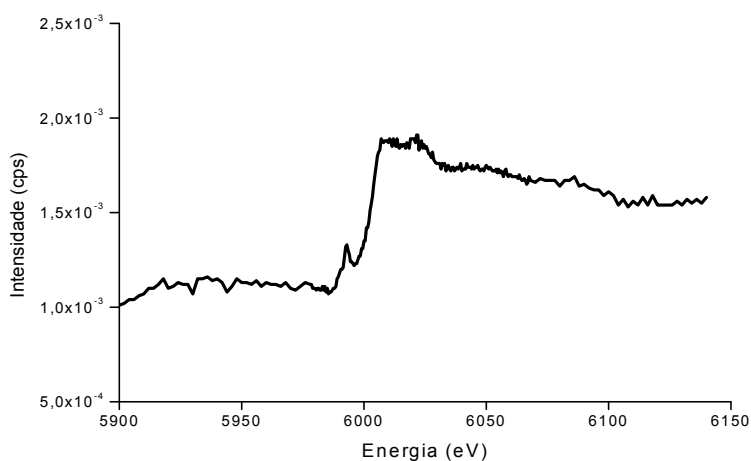


FIGURA 5.7 - Espectro de absorção da amostra 3 sem adição de Cr(VI), obtido com emprego da técnica EXAFS.

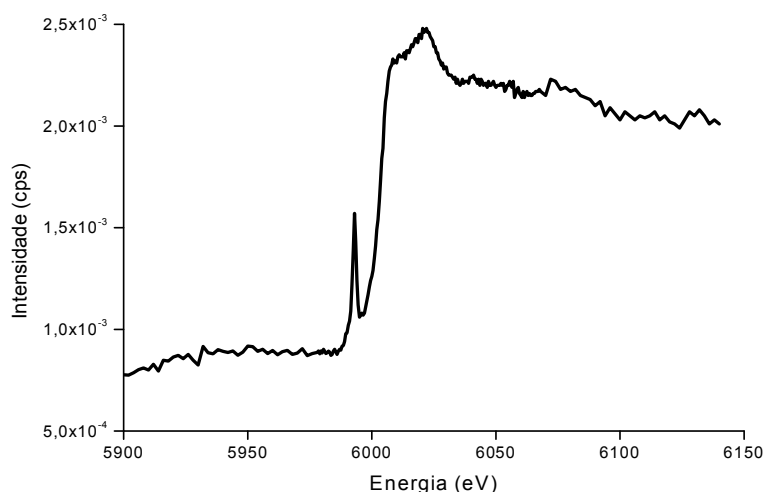


FIGURA 5.8 - Espectro de absorção da amostra 3 com adição de Cr(VI), obtido com emprego da técnica EXAFS.

Em ambas as figuras a escala do eixo y é a mesma para facilitar a comparação dos resultados. É possível visualizar a borda de absorção da espécie Cr(VI), localizada por volta de 6010 eV, bem como a pré-borda indicativa de sua presença na amostra 3, em torno de 5995 eV. Além disso, conforme esperado, a pré-borda tornou-se mais intensa com a adição da espécie na forma de solução padrão.

Dessa maneira, pela análise das figuras verifica-se que foi possível identificar o analito de interesse com o emprego da técnica EXAFS. Entretanto, o tempo disponibilizado para a realização das medidas não permitiu que a identificação de Cr(VI) fosse realizada nas demais amostras.

5.4 – Elaboração dos sistemas de análise por injeção em fluxo

5.4.1 – Primeiro sistema de análise por injeção em fluxo

O primeiro sistema de análise por injeção em fluxo foi elaborado com base no artigo de ANDRADE et al. [26]. Neste trabalho, os autores afirmam que as melhores condições de trabalho para determinação de Cr(VI) pelo método da difenilcarbazida foram obtidas utilizando-se HNO_3 para o ajuste do pH da reação envolvendo a espécie e a difenilcarbazida. Optou-se então por utilizá-lo no sistema com esse fim, e também como solução carregadora. Além disso, assim como no sistema elaborado pelos autores, a introdução do HNO_3 e da difenilcarbazida ocorre

de maneira simultânea na confluência do sistema. O sistema pode ser visto na FIGURA 5.9.

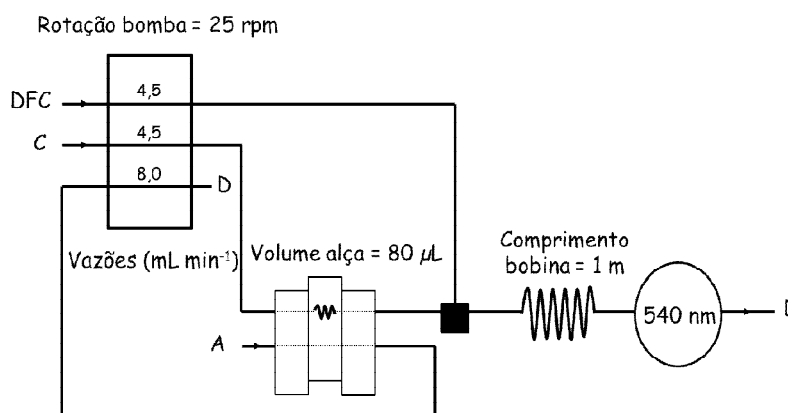


FIGURA 5.9 - Primeiro sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido, com o injetor na posição de injeção.

Como reagentes do sistema foram utilizados difenilcarbazida (DFC) na concentração de 0,05 % ($m v^{-1}$) e solução carregadora de HNO_3 (C) nas concentrações de 0,1, 0,5 e 0,8 $mol L^{-1}$. A amostra está representada como A e D corresponde ao descarte. Os reagentes difenilcarbazida e HNO_3 apresentaram vazões de 4,5 $mL min^{-1}$, já para a amostra a vazão era de 8 $mL min^{-1}$, sendo a rotação da bomba peristáltica igual a 25 rpm. O volume da alça de amostragem e o comprimento da bobina de reação eram iguais a 80 μL e 1 m, respectivamente. As medidas de absorvância foram realizadas no comprimento de onda de 540 nm utilizando um espectrofotômetro acoplado a esse sistema.

Foram realizados alguns experimentos preliminares nesse sistema visando à análise dos extratos de algumas amostras de solos. Estes foram obtidos a partir do emprego de extração alcalina com solução extratora constituída por Na_2CO_3 0,28 $mol L^{-1}$ e $NaOH$ 0,5 $mol L^{-1}$. Inicialmente optou-se pelo uso de HNO_3 0,1 $mol L^{-1}$, entretanto nenhum sinal foi observado no sistema. Uma possível justificativa seria a baixa concentração do ácido, que não era suficiente para neutralizar a solução extratora e ainda ajustar o pH da reação colorimétrica.

Dessa maneira, aumentou-se a concentração do ácido, utilizando-se HNO_3 0,5 $mol L^{-1}$ e 0,8 $mol L^{-1}$. A realização de medidas foi impossibilitada para os dois ácidos devido à formação intensa de bolhas de CO_2 , gerado a partir da reação entre HNO_3 e Na_2CO_3 . A introdução de um desborbulhador poderia resolver o

problema, contudo esta alternativa não foi realizada, pois se desejava que o sistema fosse o mais simples possível. Assim, foi desenvolvido um estudo com outras soluções extratoras visando à identificação de uma solução mais adequada para o trabalho.

Dentre as soluções extratoras empregadas para extração de Cr(VI) em amostras de solos, Na_2CO_3 0,28 mol L⁻¹ - NaOH 0,5 mol L⁻¹ [7,14] e Na_2CO_3 0,1 mol L⁻¹ [16] estão entre as mais comuns. Como a utilização de uma solução extratora constituída por Na_2CO_3 não seria viável, realizou-se um experimento com a amostra 3 empregando o procedimento de extração alcalina descrito na seção 4.4, porém utilizando-se NaOH 0,1 mol L⁻¹ [4,13] como solução extratora. Para efeito de comparação, o procedimento também foi realizado na mesma amostra utilizando solução constituída por Na_2CO_3 0,28 mol L⁻¹ e NaOH 0,5 mol L⁻¹. As leituras dos extratos foram realizadas em batelada, sendo o número de réplicas igual a 3 para a solução extratora Na_2CO_3 0,28 mol L⁻¹ – NaOH 0,5 mol L⁻¹ e 6 para o NaOH 0,1 mol L⁻¹ e empregando como reagentes solução de difenilcarbazida 0,2 % (m v⁻¹) e H_2SO_4 5 mol L⁻¹, as mesmas condições empregadas por MATOS et al. [16]. As concentrações de Cr(VI) determinadas para as diferentes soluções extratoras, bem como os respectivos valores de desvios padrão, estão presentes na TABELA 5.2.

TABELA 5.2 - Concentrações de Cr(VI) determinadas com o emprego de diferentes soluções extratoras.

Solução extratora	Cr(VI) (mg kg ⁻¹)
Na_2CO_3 0,28 mol L ⁻¹ - NaOH 0,5 mol L ⁻¹	3,22 ± 0,45
NaOH 0,1 mol L ⁻¹	3,39 ± 0,27

É possível verificar que as soluções extratoras empregadas propiciaram resultados semelhantes. Além disso, a solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ foi bastante eficaz para promover a extração da espécie Cr(VI) nessa amostra e, sendo assim, foi escolhida para ser utilizada no método de preparo de amostra empregado.

5.4.2 – Segundo sistema de análise por injeção em fluxo

Conforme descrito na seção 3.4, o método colorimétrico para determinação de Cr(VI) em amostras através de reação desta espécie com o reagente difenilcarbazida é empregado convencionalmente da seguinte maneira: ajusta-se o pH da reação para 1 com solução de ácido e, na sequência, o reagente é adicionado na amostra para formação do complexo violeta característico de Cr(III)-difenilcarbazona.

Entretanto, experimentos realizados com extratos das amostras de solos mostraram que quando a adição dos reagentes era realizada nessa ordem, o desenvolvimento da coloração do complexo não ocorria, sendo isso observado mesmo com a adição de solução padrão de Cr(VI). Foram realizadas leituras dos extratos no espectrômetro de absorção atômica com chama, e essas mostraram que a extração de Cr(VI) foi eficaz, já que foi possível verificar a presença da espécie nos extratos. Dessa maneira, a formação do complexo não foi observada devido a problemas ocorridos na etapa de determinação de Cr(VI).

Uma possível explicação para essa ocorrência é a presença de altas concentrações de íons interferentes nas amostras de solos, já que o método, apesar da simplicidade, pode apresentar problemas quando existem íons ou compostos interferindo na etapa de determinação de Cr(VI) [4]. No trabalho publicado por PETTINE e CAPRI [7] a inversão da ordem de adição dos reagentes, ou seja, adição de difenilcarbazida seguida de acidificação da amostra, é recomendada para reduzir possíveis interferências. Essa estratégia foi aplicada nas amostras e os resultados obtidos para testes preliminares realizados em batelada foram bons, já que ocorreu o desenvolvimento da coloração violeta do complexo e a determinação de Cr(VI) foi possível.

A partir disso a inversão da ordem de adição dos reagentes passou a ser empregada para todos os experimentos realizados e o desenvolvimento de um novo sistema de análise por injeção em fluxo foi necessário, já que no primeiro sistema a introdução do ácido e da difenilcarbazida na confluência ocorriam simultaneamente. A FIGURA 5.10 representa o segundo sistema de análise por injeção em fluxo elaborado.

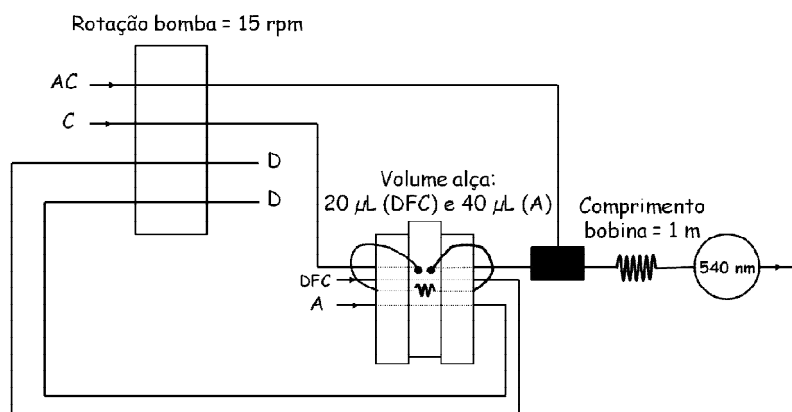


FIGURA 5.10 - Segundo sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido, com o injetor na posição de injeção.

No sistema, AC representa a solução de H_2SO_4 , C a solução carregadora (água), DFC o reagente difenilcarbazida, A corresponde à amostra e D o descarte. No injetor comutador do sistema, a primeira alça era preenchida com solução de difenilcarbazida, esta por sua vez reagia com a amostra e, na sequência, uma segunda alça era preenchida com o reagente. Então, a amostra e a difenilcarbazida eram direcionadas para a confluência do sistema, onde o ácido era diretamente introduzido para o ajuste do pH da reação.

Alguns experimentos foram realizados neste sistema empregando solução padrão de Cr(VI) 1 mg L^{-1} , HNO_3 com concentrações de 0,04, 0,1 e 0,8 mol L^{-1} e H_2SO_4 0,04, 0,4 e 0,8 mol L^{-1} . O H_2SO_4 foi utilizado por ser comumente empregado no método da difenilcarbazida [21]. Já para a difenilcarbazida três concentrações diferentes foram usadas, sendo essas 0,05, 0,1 e 0,2 % (m v^{-1}).

De uma maneira geral os resultados obtidos nesses experimentos não foram satisfatórios, já que quando ácidos mais diluídos foram empregados nenhum sinal foi observado no sistema, e quando as concentrações eram mais altas os sinais registrados oscilavam muito e o sistema apresentava uma alta instabilidade. Acredita-se que isto tenha sido proveniente das diferenças entre os índices de refração das soluções empregadas no sistema, sendo esses valores iguais a 1,48, 1,39, 1,33 e 1,35 a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ para o H_2SO_4 , o HNO_3 , a água empregada como solução carregadora e a acetona utilizada no preparo da difenilcarbazida, respectivamente [36].

Para resolução deste problema realizou-se a compatibilização de matriz, ou seja, todas as soluções foram preparadas em meio de acetona, de maneira que a mesma proporção volume de acetona:volume de água foi utilizada no preparo das soluções carregadora, de ácido e de difenilcarbazida. Essa estratégia funcionou, já que o sistema deixou de apresentar oscilações nos sinais, e nos experimentos seguintes os reagentes passaram a ser preparados desse modo.

Visando a otimização do segundo sistema foi realizado um planejamento fatorial fracionário 2^{6-3} [37] com um total de oito experimentos. As respostas eram dadas em termos dos sinais obtidos nas diferentes condições de realização dos experimentos. As seis variáveis estudadas e seus respectivos níveis encontram-se nas TABELAS 5.3 e 5.4.

TABELA 5.3 - Planejamento fatorial fracionário 2^{6-3} para otimização do segundo sistema de análise por injeção em fluxo.

Experimento	1	2	3	4 (12)	5 (23)	6 (123)
	Concentração DFC	Volume DFC	Volume amostra	Tipo ácido	Concentração ácido	Tamanho bobina
1	-1	-1	-1	1	1	-1
2	1	-1	-1	-1	1	1
3	-1	1	-1	-1	-1	1
4	1	1	-1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	1	-1	1
6	1	-1	1	-1	-1	-1
7	-1	1	1	-1	1	-1
8	1	1	1	1	1	1

TABELA 5.4 - Níveis das variáveis do planejamento fatorial fracionário 2^{6-3} para otimização do segundo sistema de análise por injeção em fluxo.

Nível	DFC (%)	DFC (μL)	Amostra (μL)	Tipo ácido	Ácido (mol L^{-1})	Bobina (cm)
-1	0,05	20	40	HNO ₃	0,1	30
1	0,1	40	80	H ₂ SO ₄	0,2	100

De acordo com as respostas obtidas no planejamento, as variáveis de maior importância para o sistema foram o tipo de ácido empregado e a concentração do mesmo. Sendo assim, os próximos experimentos foram realizados fixando-se a concentração de difenilcarbazida, o tipo de ácido e o tamanho da bobina no nível 1 (superior), o volume de difenilcarbazida e de amostra no nível -1 (inferior), e apenas a concentração de H_2SO_4 seria otimizada. Essas condições do sistema correspondem à configuração mostrada na FIGURA 5.10.

Foram utilizadas soluções de H_2SO_4 com concentrações de 0,2, 0,4, 0,6 e 0,8 mol L^{-1} , entretanto não houve diferença entre elas com relação aos sinais registrados. Estes eram baixos e oscilavam muito quando o H_2SO_4 0,8 mol L^{-1} foi empregado. Com a suspeita de que poderia não estar havendo tempo suficiente para formação do complexo Cr(III)-difenilcarbazona, utilizou-se uma rotação menor na bomba peristáltica, de 10 rpm, porém novamente não houve aumento do sinal. Testou-se também o aumento do tamanho da bobina de reação de 100 para 150 cm, mas também não ocorreram mudanças. Optou-se por não utilizar uma bobina de tamanho ainda maior, pois isso poderia comprometer a sensibilidade do sistema desenvolvido. A solução final encontrada foi a elaboração de um terceiro sistema de análise por injeção em fluxo.

5.4.3 – Terceiro sistema de análise por injeção em fluxo

Diferente do sistema elaborado anteriormente, em que a difenilcarbazida passava pelo injetor comutador, neste terceiro sistema o reagente era introduzido diretamente em uma primeira confluência, reagindo então com a amostra quando esta era injetada. Esta estratégia foi utilizada pois se presumiu que no segundo sistema o volume de difenilcarbazida não estava sendo suficiente para a formação do complexo com Cr(VI). Na FIGURA 5.11 é possível visualizar o terceiro sistema na posição de amostragem; já na FIGURA 5.12 o sistema encontra-se na posição de injeção.

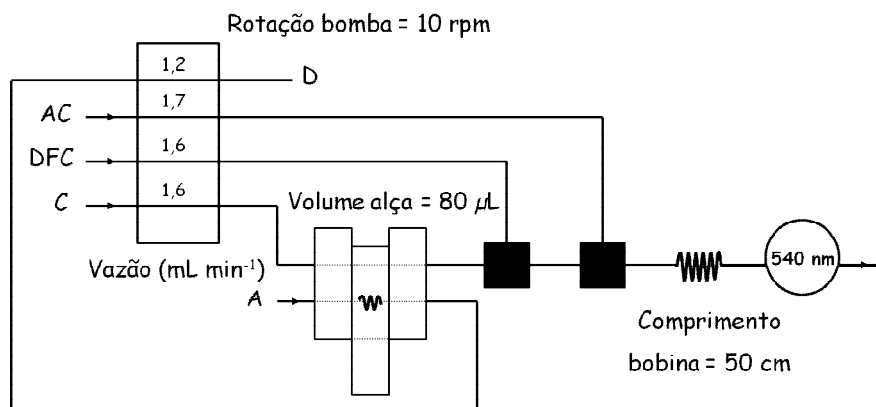


FIGURA 5.11 - Terceiro sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido, com o injetor na posição de amostragem.

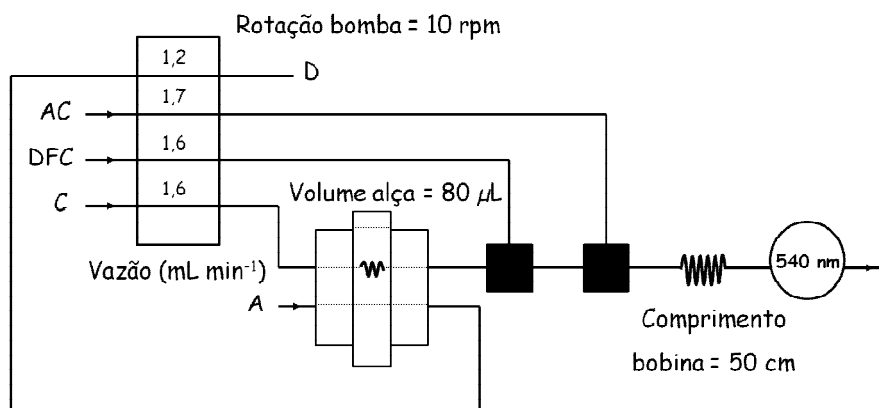


FIGURA 5.12 - Terceiro sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido, com o injetor na posição de injeção.

No sistema, A representa a amostra, AC a solução de H₂SO₄, DFC a solução de difenilcarbazida, C a solução carregadora (água e acetona) e D o descarte. Foram realizados experimentos empregando solução padrão de Cr(VI) 1 mg L⁻¹, sendo estes a variação do comprimento da bobina de reação (25, 50 e 100 cm), da rotação da bomba peristáltica (10, 15, 20 e 25 rpm), da concentração de difenilcarbazida (0,1, 0,15 e 0,2 %) e, por fim, da concentração de H₂SO₄ (0,2, 0,3 e 0,4 mol L⁻¹). O objetivo principal dos experimentos era a obtenção de um sinal de absorvância mais próximo possível do sinal do resíduo violeta coletado do descarte do espectrofotômetro, quando este era analisado em batelada. As melhores respostas obtidas nesses experimentos podem ser vistas na TABELA 5.5.

TABELA 5.5 - Melhores respostas para o terceiro sistema de análise por injeção em fluxo.

Variável	Melhor resposta
Comprimento da bobina de reação (cm)	50
Rotação da bomba peristáltica (rpm)	10
Concentração de difenilcarbazida (%)	0,1
Concentração de H ₂ SO ₄ (mol L ⁻¹)	0,2

É importante salientar que a rotação da bomba peristáltica de 10 rpm corresponde, respectivamente, às vazões de 1,2 e 1,7 mL min⁻¹ para a amostra e o H₂SO₄ 0,2 mol L⁻¹, e de 1,6 mL min⁻¹ para a difenilcarbazida 0,1 % (m v⁻¹) e a solução carregadora. Além disso, o volume da alça de amostragem era igual a 80 µL e o comprimento de onda das medidas de 540 nm. O sistema foi então montado com essa configuração final, a qual corresponde à configuração mostrada nas FIGURAS 5.11 e 5.12, e empregado juntamente com um espectrofotômetro de absorção molecular para determinação das concentrações de Cr(III) e (VI) nas amostras de solos. Para efeito de comparação, as medidas também foram realizadas em batelada, utilizando apenas o espectrofotômetro.

5.5 – Determinações de Cr(III) e (VI) nas amostras de solos

As concentrações de Cr(III) e (VI) determinadas nas amostras de solos e no material de referência certificado utilizado, o SRM[®] 2701 (*hexavalent chromium in contaminated soil – high level*), a partir de leituras realizadas em batelada e com o emprego do sistema de análise por injeção em fluxo, estão apresentadas na TABELA 5.6. Os resultados estão acompanhados dos respectivos valores de desvios padrão. As concentrações de Cr(III) nas amostras de solos foram calculadas a partir da diferença entre os teores de Cr pseudototal e de Cr(VI).

TABELA 5.6 - Concentrações de Cr(III) e (VI) nas amostras para leituras realizadas em batelada e com emprego do sistema de análise por injeção em fluxo (n = 3).

Amostra	Cr(VI) batelada (mg kg ⁻¹)	Cr(III) batelada (mg kg ⁻¹)	Cr(VI) FIA (mg kg ⁻¹)	Cr(III) FIA (mg kg ⁻¹)
1	2,60 ± 0,51	263 ± 28	3,10 ± 0,68	262 ± 28
2	2,81 ± 0,07	324 ± 38	6,87 ± 0,77	320 ± 38
3	3,35 ± 0,10	46,6 ± 7,0	7,21 ± 0,52	42,7 ± 7,0
4	2,56 ± 0,09	277 ± 21	7,29 ± 1,46	272 ± 21
5	< 0,14	225 ± 25	0,875 ± 0,623	224 ± 25
6	< 0,14	90,0 ± 4,0	0,955 ± 0,363	89,0 ± 4,0
7	< 0,14	47,0 ± 17,0	< 0,31	47,0 ± 17,0
8	< 0,14	51,0 ± 18,0	< 0,31	51,0 ± 18,0
SRM [®] 2701	295 ± 1	-	262 ± 45	-

Com relação às concentrações de Cr(VI) determinadas em batelada, estas variaram entre 2,56 e 3,35 mg kg⁻¹, sendo que para quatro amostras de solos as concentrações ficaram abaixo do limite de detecção, igual a 0,14 mg kg⁻¹, e o limite de quantificação foi de 0,48 mg kg⁻¹. Os desvios padrão variaram entre 0,07 e 0,51 mg kg⁻¹, e os desvios padrão relativos entre 2,4 e 19,6 %. Já as concentrações de Cr(III) estavam entre 46,6 e 324 mg kg⁻¹, e os desvios padrão foram no geral altos, entre 4,0 e 38 mg kg⁻¹ de Cr(III). Para as amostras cujas concentrações de Cr(VI) ficaram abaixo do limite de detecção, o teor de Cr(III) foi equivalente à concentração de Cr pseudototal obtida na análise por FAAS.

Para as concentrações de Cr(VI) determinadas com o emprego do sistema de análise por injeção em fluxo, a variação foi de 0,875 a 7,29 mg kg⁻¹, e os desvios padrão entre 0,363 e 1,46 mg kg⁻¹. Os cálculos das concentrações da espécie foram realizados com base na altura dos picos presentes nos diagramas. O limite de detecção foi de 0,31 mg kg⁻¹ e duas amostras obtiveram concentrações de Cr(VI) abaixo desse valor; já o limite de quantificação foi de 1,04 mg kg⁻¹. Os desvios padrão relativos estavam entre 7,2 e 71,2 %. Já os teores de Cr(III) variaram entre 42,7 e 320 mg kg⁻¹, com desvios padrão de 4,0 a 38 mg kg⁻¹.

Com o objetivo de avaliar a exatidão dos métodos de determinação empregados, utilizou-se material de referência certificado com concentração de 551,2 ± 34,5 mg kg⁻¹ de Cr(VI). Para as análises em batelada a concentração obtida

foi igual a 295 ± 1 , o que corresponde a uma porcentagem baixa de recuperação, de 53 %. Já em relação ao teor de Cr(VI) determinado com o uso do sistema de análise por injeção em fluxo, igual a $262 \pm 45 \text{ mg kg}^{-1}$, esta porcentagem foi ainda menor, de 47 %.

As curvas de calibração obtidas para as leituras em batelada e com o sistema de análise por injeção em fluxo encontram-se representadas nas FIGURAS 5.13 (a) e 5.13 (b), sendo os coeficientes de correlação iguais a, respectivamente, 0,99 e 0,95 ($n = 10$). É possível observar que a curva de calibração para o método em batelada foi bastante adequada, entretanto o mesmo não pode ser afirmado a respeito da curva obtida com o uso do sistema de análise por injeção em fluxo.

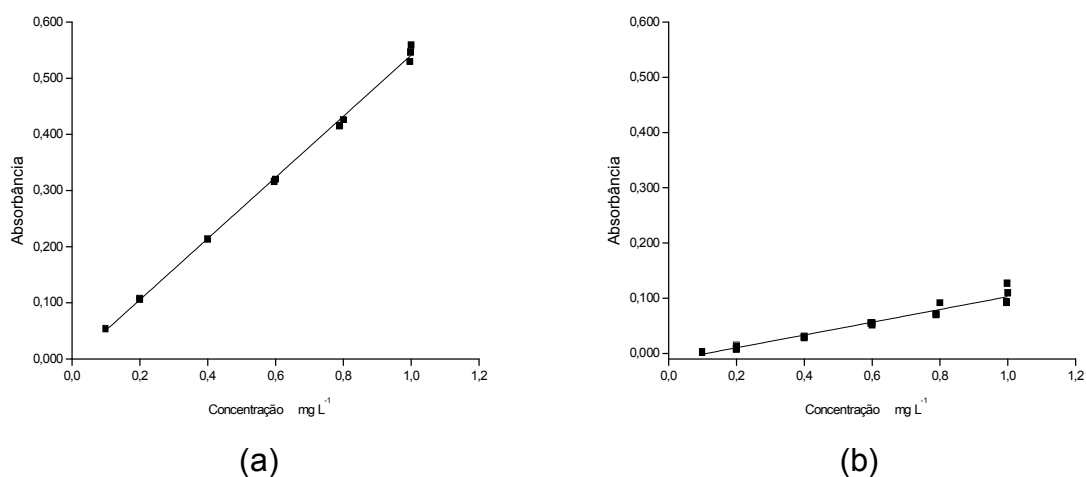


FIGURA 5.13 - Curvas de calibração obtidas para os métodos de determinação de Cr(VI) em batelada (a) e com uso do sistema de análise por injeção em fluxo (b).

Na TABELA 5.7 é possível verificar os valores de algumas figuras de mérito utilizadas para a avaliação do desempenho analítico dos métodos de determinação de Cr(VI) empregados nesse trabalho.

TABELA 5.7 - Figuras de mérito empregadas para a avaliação do desempenho analítico dos métodos de determinação de Cr(VI).

	Batelada	FIA
Limite de detecção (mg kg ⁻¹)	0,14	0,31
Limite de quantificação (mg kg ⁻¹)	0,48	1,04
Desvio padrão relativo (%)	2,4 – 19,6	7,2 – 71,2
Coefficiente de correlação	0,99	0,95

Comparando-se as concentrações de Cr(VI) determinadas nas amostras de solos pelos dois métodos, verifica-se que essas foram baixas e no geral bastante discordantes entre si. Acredita-se que essas diferenças sejam provenientes de problemas ocorridos no sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido.

Em relação a uma mesma reação química, quando sinais analíticos obtidos em batelada e fluxo são comparados, normalmente diferenças são esperadas, devido à dispersão que a zona de amostra sofre ao longo do percurso analítico no sistema em fluxo, e que gera uma queda na sensibilidade. Entretanto, para as amostras empregadas nesse trabalho, estas diferenças foram discrepantes, de maneira que os sinais obtidos em fluxo foram extremamente baixos. Uma possível justificativa para esse fato é a dificuldade de manutenção do pH ideal da reação entre Cr(VI) e difenilcarbazida (igual a 1), já que este pode variar durante a passagem da amostra pelo sistema, podendo isto ter sido agravado pela impossibilidade de utilização de ácidos mais concentrados, por causarem oscilações no sistema.

Além disso, analisando-se os diagramas mostrados nas FIGURAS 5.14, 5.15 (a) e 5.15 (b), que representam as leituras da curva de calibração e das amostras de solos 1,3 e 8 sem e com introdução de difenilcarbazida no sistema, respectivamente, podem ser observados sinais bastante negativos, possivelmente devido à composição dos extratos das amostras e da curva, preparados em meio de NaOH 0,1 mol L⁻¹. A diferença de viscosidade e coloração entre os extratos básicos e a solução carregadora pode também justificar o aparecimento desses sinais [38].

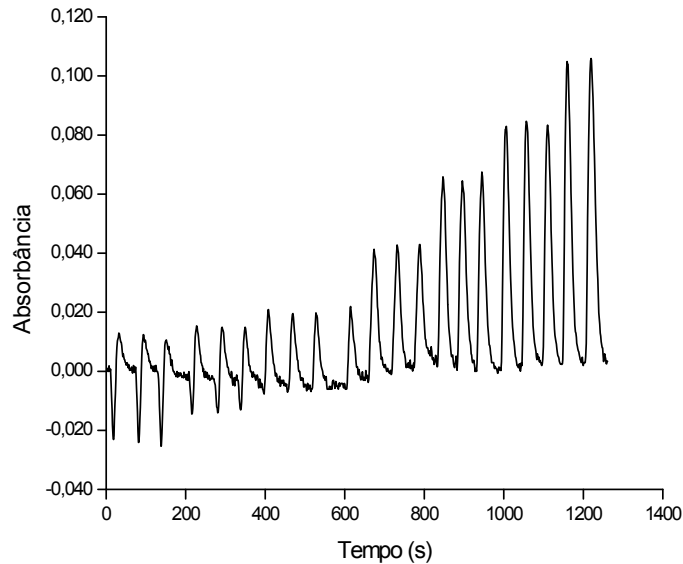


FIGURA 5.14 - Diagrama obtido na leitura da curva de calibração.

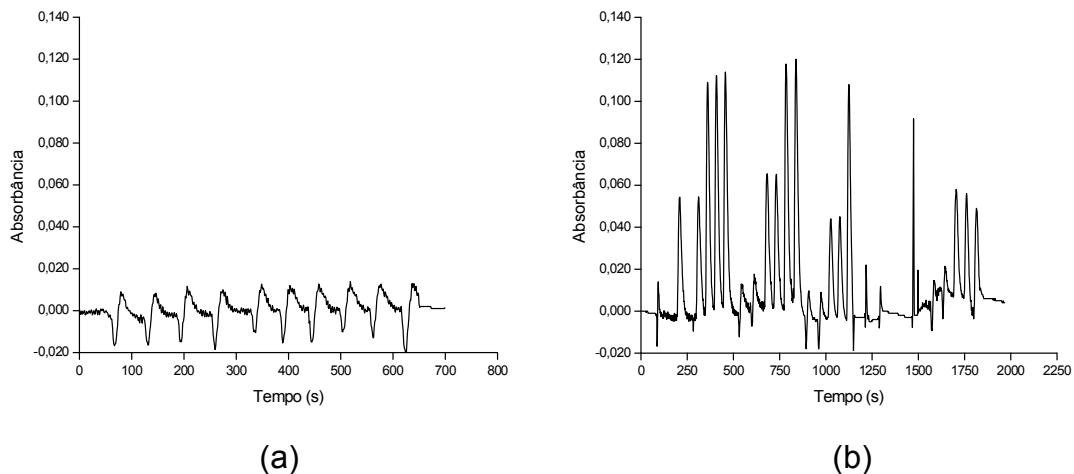


FIGURA 5.15 - Diagramas obtidos nas leituras das amostras de solos 1, 3 e 8 sem (a) e com (b) introdução de difenilcarbazida no sistema.

Ademais, o emprego da inversão da ordem de introdução do ácido e da difenilcarbazida para minimizar possíveis interferências de íons ou compostos durante a determinação de Cr(VI) trouxe dificuldades para a elaboração dos sistemas de análise por injeção em fluxo, devido à praticamente inexistência de trabalhos publicados na literatura em que a introdução dos reagentes é realizada dessa maneira, em relação à ordem utilizada no método convencional.

Por fim, os problemas ocorridos no sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido também podem ser verificados quando é feita a comparação entre as porcentagens de desenvolvimento da reação entre Cr(VI) e difenilcarbazida

para os métodos de determinação empregados, através do cálculo das absorvidades molares aparentes do complexo Cr(III)-difenilcarbazona formado, utilizando as curvas de calibração mostradas nas FIGURAS 5.13 (a) e 5.13 (b).

Com relação às leituras em batelada, o valor obtido foi igual a $2,8 \times 10^4$ L mol⁻¹ cm⁻¹, o que corresponde a uma boa porcentagem de formação do complexo, igual a 65 %, em comparação com seu valor teórico, de $4,3 \times 10^4$ L mol⁻¹ cm⁻¹ [22]. Já com o emprego do sistema de análise por injeção em fluxo, a absorvidade molar aparente do complexo foi igual a $6,6 \times 10^3$ L mol⁻¹ cm⁻¹, o que corresponde a uma porcentagem muito baixa de desenvolvimento do complexo, de 15 %, e indica que a reação entre Cr(VI) e difenilcarbazona pouco ocorreu nesse caso.

5.5.1 – Análise da exatidão dos métodos de determinação de Cr(VI) com emprego de material de referência certificado

Conforme descrito na seção anterior, na avaliação da exatidão dos métodos de determinação de Cr(VI) empregando material de referência certificado, foram obtidas baixas porcentagens de recuperação. Dessa maneira, procedeu-se com o emprego do método das adições de padrão com o objetivo de avaliar a ocorrência de possíveis efeitos de matriz.

Para isso, foram adicionadas diferentes concentrações de Cr(VI) na forma de solução padrão nos extratos básicos do material de referência certificado, ou seja, após a realização do preparo de amostra. Estes experimentos foram realizados em triplicata e na TABELA 5.8 é possível verificar as concentrações de Cr(VI) adicionadas.

TABELA 5.8 - Concentrações de Cr(VI) adicionadas nos extratos básicos do material de referência certificado para o método das adições de padrão.

Adição de padrão	Cr(VI) (mg L ⁻¹)
0	0
1	0,2
2	0,3
3	0,4
4	0,5

Após as adições, as análises dos extratos foram realizadas em batelada, pois este método apresentou melhores resultados para as determinações de Cr(VI) do que o sistema de análise por injeção em fluxo, e utilizando como reagentes solução de difenilcarbazida 0,2 % (m v⁻¹) e H₂SO₄ 5 mol L⁻¹, as mesmas condições empregadas por MATOS et al. [16].

A concentração média de Cr(VI) determinada no material de referência certificado foi igual a 335 mg kg⁻¹, sendo o desvio padrão e o desvio padrão relativo de 21 mg kg⁻¹ e 6,2 %, respectivamente. Isso corresponde a uma porcentagem de recuperação de 61 % em relação ao valor certificado, e um pouco maior do que o valor obtido sem o emprego do método das adições de padrão, de 53 %.

Com a finalidade de verificar se as baixas recuperações poderiam estar relacionadas ao emprego da solução extratora NaOH 0,1 mol L⁻¹ no preparo de amostra, realizou-se a extração alcalina da amostra certificada empregando solução de Na₂CO₃ 0,28 mol L⁻¹ – NaOH 0,5 mol L⁻¹, a qual é utilizada no método 3060A da USEPA [14] para determinação de Cr(VI) em solos, lodo de esgoto, sedimentos e materiais residuais similares. O experimento foi realizado em triplicata e as leituras em batelada, com emprego dos reagentes difenilcarbazida 0,2 % (m v⁻¹) e H₂SO₄ 5 mol L⁻¹. A concentração de Cr(VI) obtida foi igual a 403 mg kg⁻¹, sendo o desvio padrão e o desvio padrão relativo de 20 mg kg⁻¹ e 5,0 %, respectivamente, e a porcentagem de recuperação em relação ao valor certificado igual a 73 %.

Dessa maneira verifica-se que as baixas recuperações estão relacionadas à ocorrência de possíveis efeitos de matriz na amostra de solo empregada como material de referência certificado. Ademais, embora a concentração de Cr(VI) obtida com o uso de NaOH 0,1 mol L⁻¹ em batelada (295 ± 1 mg kg⁻¹) não esteja próxima do valor certificado (igual a 551,2 ± 34,5 mg kg⁻¹, sendo a extração de Cr(VI) realizada com emprego do método 3060A da USEPA e a determinação da espécie por SID-ICP-MS, *Speciated isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry*), encontra-se dentro do intervalo de concentrações de Cr(VI) (de 266,0 a 503,8 mg kg⁻¹) determinadas no material de referência certificado pelo método 7196A da USEPA [39]. Este método é utilizado para determinação de Cr(VI) em águas e resíduos domésticos e industriais por espectrofotometria de absorção molecular no UV-Vis com o reagente difenilcarbazida. Essas informações podem ser verificadas no certificado de análise do material de referência certificado em anexo.

Também foi realizada a comparação entre o valor certificado de Cr(VI) determinado na amostra certificada pelo método 7196A, de $364,9 \pm 147 \text{ mg kg}^{-1}$, e as concentrações determinadas em batelada e fluxo, através do emprego do teste *t* de Student não-pareado. Em relação às análises em batelada os valores não diferiram estatisticamente em um nível de confiança de 95 %, mas para as medidas em fluxo diferenças foram observadas. Pode-se afirmar, portanto, que o método em batelada foi adequado para a determinação de Cr(III) e (VI) nas amostras de solos.

Capítulo 6

Conclusões

6 – CONCLUSÕES

Ao longo deste trabalho, foram desenvolvidos procedimentos analíticos para a identificação e determinação de espécies do elemento Cr em amostras de solos provenientes da Antártica.

A avaliação qualitativa realizada com emprego da técnica XANES mostrou-se eficaz para as soluções preparadas em meio aquoso, já que os espectros obtidos para soluções padrão de Cr(III) e (VI) foram bastante coerentes quando comparados com o que é descrito na literatura. Por outro lado, para as amostras de solos e soluções padrão submetidas ao preparo de amostra com emprego de solução extratora Na_2CO_3 $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ – NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, não foi possível obter qualquer tipo de informação referente à presença de Cr(VI). Dentre os possíveis motivos para esse fato está a formação de um depósito cristalino não-uniforme proveniente da alta concentração de Na, que causou dificuldades para a penetração do feixe de radiação nos extratos básicos, inviabilizando a identificação de Cr(VI).

Já o emprego da técnica EXAFS foi bem sucedido para a identificação de Cr(VI) na amostra de solo 3, pois foi possível visualizar a borda de absorção e a pré-borda características da espécie no espectro da amostra, bem como o aumento da intensidade da pré-borda com a adição de Cr(VI) na forma de solução padrão na amostra.

A estratégia de inversão da ordem de adição dos reagentes ácido sulfúrico e difenilcarbazida nas amostras de solos gerou bons resultados para as determinações de Cr(VI) em batelada, pois tornou possível o desenvolvimento do complexo Cr(III)-difenilcarbazona, entretanto esse procedimento, quando empregado nos sistemas de análise por injeção em fluxo, trouxe dificuldades para a elaboração destes, devido à praticamente inexistência de trabalhos na literatura em que a introdução dos reagentes no sistema é realizada dessa maneira.

De uma maneira geral as concentrações de Cr(VI) determinadas nas amostras de solos com emprego do sistema de análise por injeção em fluxo e em batelada foram baixas, apesar dos teores de Cr pseudototal obtidos por espectrometria de absorção atômica com chama terem sido relativamente altos. Além disso, para algumas amostras não foi possível realizar a determinação de Cr(VI), já que estas apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção dos

métodos, iguais a $0,31 \text{ mg kg}^{-1}$ para as análises em fluxo e $0,14 \text{ mg kg}^{-1}$ em batelada.

Na comparação entre os métodos empregados para a determinação de Cr(VI) diferenças discrepantes foram observadas, sendo estas possivelmente originárias de problemas ocorridos no sistema de análise por injeção em fluxo desenvolvido. Dentre estes problemas está o registro de sinais analíticos extremamente baixos, devido à dificuldade de manutenção do pH 1 necessário para a reação entre o Cr(VI) e a difenilcarbazida, sendo isso agravado pela impossibilidade de utilização de ácidos mais concentrados, pois causavam oscilações no sistema. Além disso, foram observados sinais bastante negativos, possivelmente provenientes da composição básica dos extratos, preparados em meio de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Com relação ao emprego de material de referência certificado na análise da exatidão dos métodos de determinação de Cr(VI), baixas porcentagens de recuperação foram obtidas. Ao aplicar-se o método das adições de padrão não houve um grande aumento do percentual de recuperação para leituras em batelada, indicando a ocorrência de efeitos de matriz na amostra certificada. Isto foi confirmado comparando-se este percentual com o obtido a partir da extração de Cr(VI) na amostra com solução extratora Na_2CO_3 $0,28 \text{ mol L}^{-1}$ – NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pois nesse caso a porcentagem de recuperação também não foi alta.

A comparação entre o valor certificado de Cr(VI) determinado na amostra certificada pelo método colorimétrico 7196A e as concentrações determinadas nas amostras de solos em fluxo e batelada foi realizada através do teste *t* de Student não-pareado. Para as análises em batelada, ao nível de confiança de 95 %, os valores não diferiram estatisticamente, porém para as medidas em fluxo diferenças foram observadas. Portanto, é possível concluir que o método em batelada se mostrou uma boa opção para a determinação de Cr(VI) nas amostras de solos.

A quantificação de Cr(III) realizada a partir da subtração dos teores de Cr pseudototal e de Cr(VI) foi uma estratégia adequada para a determinação de Cr(III), sendo que as concentrações desta espécie foram consideravelmente altas para as amostras de solos empregadas no trabalho.

Finalmente, do ponto de vista ambiental, é de extrema importância o fato de que o elemento Cr está presente essencialmente na forma de Cr(III) nas

amostras de solos e não de Cr(VI), especialmente considerando-se a reconhecida toxicidade desta espécie e que, nas últimas décadas, a intensificação de ações antrópicas como pesca, turismo e pesquisa na Antártica tem gerado uma fonte adicional de impactos negativos, e que representam uma forte ameaça à biodiversidade marinha e terrestre desse continente.

Referências

Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MULAUDZI, L.V.; VAN STADEN, J.F. & STEFAN, R.I. "Determination of chromium(III) and chromium(VI) by use of a spectrophotometric sequential injection system". *Anal. Chim. Acta*, **467**: 51, 2002.
2. LEE, J. D. *Química inorgânica não tão concisa*. 5ª edição. São Paulo, Editora Edgard Blücher LTDA, 1999. p. 360 e 370.
3. KOTAS, J. & STASICKA, Z. "Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation". *Environ. Pollut.*, **107**: 263, 2000.
4. UNCETA, N.; SÉBY, F.; MALHERBE, J. & DONARD, O.F.X. "Chromium speciation in solid matrices and regulation: a review". *Anal. Bioanal. Chem.*, **397**: 1097, 2010.
5. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB; *Decisão de Diretoria Nº 195-2005- E*, de 23 de novembro de 2005.
6. BARNHART, J. "Occurrences, uses, and properties of chromium". *Regul. Toxicol. Pharm.*, **26**: S3, 1997.
7. PETTINE, M. & CAPRI, S. "Digestion treatments and risks of Cr(III)-Cr(VI) interconversions during Cr(VI) determination in soils and sediments – a review". *Anal. Chim. Acta*, **540**: 231, 2005.
8. CARUSO, J. A.; KLAUE, B.; MICHALKE, B. & ROCKE, D. M. "Group assessment: elemental speciation". *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **56**: 32, 2003.
9. MICHALKE, B. "Element speciation definitions, analytical methodology, and some examples". *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **56**: 122, 2003.
10. GONZALVEZ, A.; ARMENTA, S.; CERVERA, M.L. & DE LA GUARDIA, M. "Non-chromatographic speciation". *Trends Anal. Chem.*, **29**(3): 260, 2010.
11. CARUSO, J.A. & MONTES-BAYON, M. "Elemental speciation studies – new directions for trace metal analysis". *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **56**: 148, 2003.
12. CÁMARA, C. "Sample preparation for speciation". *Anal. Bioanal. Chem.*, **381**: 277, 2005.
13. JAMES, B.R.; PETURA, J.C.; VITALE, R.J. & MUSSOLINE, G.R. "Hexavalent chromium extraction from soils: a comparison of five methods". *Environ. Sci. Technol.*, **29**: 2377, 1995.
14. United States Environmental Protection Agency, 1996. Method 3060, in: Test Methods for Evaluating Solid Wastes, Physical/Chemical Methods, update, SW-846. Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C.
15. PANICHEV, N., MANDIWANA, K. & FOUKARIDIS, G. "Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of Cr(VI) in soil after leaching of Cr(VI) species with carbon dioxide". *Anal. Chim. Acta*, **491**: 81, 2003.
16. MATOS, W.O.; NÓBREGA, J.A.; SOUZA, G.B. & NOGUEIRA, A.R.A. "Especiação redox de cromo em solo acidentalmente contaminado com solução sulfocrômica". *Quim. Nova*, **31**(6): 1450, 2008.
17. SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J. & NIEMAN, T.A. *Princípios de Análise Instrumental*. 5ª edição. Porto Alegre, Bookman® Companhia Editora, 2002. p. 194, 197, 252, 255-256, 276, 300, 730 e 732.
18. DIONÍSIO, A.G.G.; DE JESUS, A.M.D.; AMAIS, R.S.; DONATI, G.L.; MIRANDA, K.A.; GUERRA, M.B.B.; NÓBREGA, J.A. & PEREIRA-FILHO, E.R. "Old and new flavors of flame (furnace) atomic absorption spectrometry". *Int. J. Spectrosc.*, **2011**: 1, 2011.

19. KELLNER, R.; MERMET, J. M.; OTTO, M. & WIDMER, H. M. *Analytical Chemistry*. Weinheim, Wiley-VCH, 1998. p. 533.
20. GIRARD, L. & HUBERT, J. "Speciation of chromium (VI) and total chromium determination in welding dust samples by flow-injection analysis coupled to atomic absorption spectrometry". *Talanta*, **43**: 1965, 1996.
21. ANDERSEN, J.E.T. "Introduction of hydrogen peroxide as an oxidant in flow injection analysis: speciation of Cr(III) and Cr(VI)". *Anal. Chim. Acta*, **361**: 125, 1998.
22. MARCZENKO, Z. & LOBINSKI, R. *Spectrochemical trace analysis for metals and metalloids*. 1a ed. Amsterdam, Elsevier Science, 1998.
23. BURGUERA, J.L. & BURGUERA, M. "Flow injection-electrothermal atomic absorption spectrometry configurations: recent developments and trends". *Spectrochim. Acta, Part B*, **56**: 1801, 2001.
24. RUZICKA, J. & HANSEN, E.H. *Flow injection analysis*. 2a ed. New York, John Wiley & Sons, 1988. p. 15.
25. VANDECASTEELE, C. & BLOCK, C.B. *Modern methods for trace element determination*. 1a ed. Chichester, John Wiley & Sons, 1993. p. 116.
26. ANDRADE, J.C.; ROCHA, J.C.; PASQUINI, C. & BACCAN, N. "Effect of on-line complex formation kinetics on the flow injection analysis signal: the spectrophotometric determination of chromium(VI)". *Analyst*, **108**: 621, 1983.
27. PANNAIN, M.C. & SANTELLI, R.E. "On the spectrophotometric flow injection determination of chromium(VI) in natural waters after on-line preconcentration on activated alumina". *Talanta*, **42**: 1609, 1995.
28. WANG, J.; ASHLEY, K.; KENNEDY, E.R. & NEUMEISTER, C. "Determination of hexavalent chromium in industrial hygiene samples using ultrasonic extraction and flow injection analysis". *Analyst*, **122**: 1307, 1997.
29. <http://www.lnls.br> (acessado em 14/11/2011).
30. <http://www.lightsources.org> (acessado em 13/01/2012).
31. NEWVILLE, M. *Fundamentals of XAFS*. Chicago, 2004. p. 2, 6, 8 e 39.
32. SZULCZEWSKI, M.D.; HELMKE, P.A. & BLEAM, W.F. "Comparison of XANES analyses and extractions to determine chromium speciation in contaminated soils". *Environ. Sci. Technol.*, **31**: 2954, 1997.
33. SHAFFER, R.E.; CROSS, J.O.; ROSE-PEHRSSON, S.L. & ELAM, W.T. "Speciation of chromium in simulated soil samples using X-ray absorption spectroscopy and multivariate calibration". *Anal. Chim. Acta*, **442**: 295, 2001.
34. HOWE, J.A.; LOEPPERT, R.H.; DEROSE, V.J.; HUNTER, D.B. & BERTSCH, P.M. "Localization and speciation of chromium in subterranean clover using XRF, XANES, and EPR Spectroscopy". *Environ. Sci. Technol.*, **37**: 4091, 2003.
35. DIN 38 414 Part 7. German standard methods for the examination of water, waste water and sludge, sludge and sediment (Group S), digestion using aqua regia for the subsequent determination of the acid-soluble portion of metals (S7). Berlin, 1983.
36. <http://www.merck-chemicals.com> (acessado em 18/04/2012).
37. BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S. & BRUNS, R.E. *Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*. 2ª edição. Campinas, Editora da Unicamp, 2003.
38. http://www.ufscar.br/dq-gaia/images_2007/curso_FIA_FINAL.pdf (acessado em 29/01/2012).
39. New Jersey Department of Environmental Protection and Energy (NJDEPE). NJDEPE Modified Methods 3060/7196. 1992.

Anexo 1



CERTIFIED REFERENCE MATERIAL BCR[®] – 146R

CERTIFICATE OF ANALYSIS

SEWAGE SLUDGE FROM INDUSTRIAL ORIGIN			
Element	Mass fraction based on dry mass		Number of accepted sets of results p
	Certified value ¹⁾ [mg/kg]	Uncertainty ²⁾ [mg/kg]	
Total content			
Cd	18.8	0.5	9
Co	7.39	0.27	7
Cr	196	7	10
Cu	838	16	8
Hg	8.6	0.4	4
Mn	323	7	10
Ni	70	5	6
Pb	609	14	11
Zn	3060	60	11
Element	Mass fraction based on dry mass		Number of accepted sets of results p
	Certified value ³⁾ [mg/kg]	Uncertainty ²⁾ [mg/kg]	
Aqua regia soluble content			
Cd	18.4	0.4	6
Co	6.5	0.4	8
Cr	174	7	9
Cu	831	16	9
Hg	8.39	0.25	5
Mn	298	9	9
Ni	65.0	3.0	7
Pb	583	17	9
Zn	3040	60	10

¹⁾ Unweighted mean value of the means of p accepted sets of data, each set being obtained in a different laboratory and/or with a different method of determination. The certified values are traceable to the SI.
²⁾ Half-width of the 95 % confidence interval of the mean defined in ¹⁾ or ³⁾.
³⁾ Unweighted mean value of the means of p accepted sets of data, each set being obtained in a different laboratory and/or with a different method of determination. The certified values are traceable to the aqua regia extraction method as described in the report (DIN 38414-S7).

This certificate is valid for one year after purchase.

Sales date:

The minimum amount of sample to be used is 50 mg.

NOTE

This material has been certified by BCR (Community Bureau of Reference, the former reference materials programme of the European Commission). The certificate has been revised under the responsibility of IRMM.

Brussels, February 1996
Latest revision: April 2007

Signed: _____

Prof. Dr. Hendrik Emons
Unit for Reference Materials
EC-JRC-IRMM
Retieseweg 111
2440 Geel, Belgium

Additional Material Information	
Major Compounds ¹⁾	Mass Fraction [g/kg]
SiO ₂	221.5
MgO	24
Al ₂ O ₃	87
TiO ₂	41.0
Fe ₂ O ₃	19.5
P ₂ O ₅	76.5
K ₂ O	7.0

¹⁾ Determination with X-ray fluorescence spectrometry

DESCRIPTION OF THE SAMPLE

The sample consists of about 50 g of powdered sewage sludge (particle size < 90 µm) from industrial origin in brown glass bottles provided with a polyethylene insert and a screw cap.

ANALYTICAL METHOD USED FOR CERTIFICATION

A wide range of sample treatment methods was applied as necessary, e.g. digestion with mixtures of oxidising acids; addition of HF was mandatory for complete digestion of the material.

Methods of final determination were:

- Cold vapour atomic absorption spectrometry
- Differential pulse anodic stripping voltammetry
- Differential pulse cathodic stripping voltammetry
- Electrothermal atomic absorption spectrometry
- Energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry
- Flame atomic absorption spectrometry
- Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry
- Inductively coupled plasma mass spectrometry
- Instrumental neutron activation analysis
- Isotope dilution mass spectrometry
- Isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry
- Neutron activation analysis with radiochemical separation

PARTICIPANTS

- Agricultural Research Centre of Finland, Jokionen (FI)
- Agriculture and Food Development Authority, Wexford (IE)
- CNRS, Service Central d'Analyse, Vernaison (FR)
- ECN, Energieonderzoekcentrum, Petten (NL)
- Ecole Européenne des Hautes Etudes des Industries Chimiques, Strasbourg (FR)
- GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Oberschleißheim (DE)
- IFA, Tulln (AT)
- INRA, Station d'Agronomie, Villenave d'Ormon (FR)
- Institut für Analytische Chemie, Technische Universität, Wien (AT)
- Institute for Soil Fertility, Haren (NL)
- European Commission, Joint Research Centre, Environment Institute, Ispra (IT)
- Laboratorium voor Analytische Scheikunde, INW, Universiteit Gent (BE)
- Risø National Laboratory, Roskilde (DK)
- Universidad de Barcelona, Depto. de Química Analítica (ES)
- Università di Pavia, Depto. de Chimica Nuclearia (IT)

SAFETY INFORMATION

The usual laboratory safety precautions apply.

INSTRUCTIONS FOR USE

The sample should be used as it is from the bottle. Before a bottle is opened, it should be shaken manually for 5 min so that the material is re-homogenised.

The correction to dry mass must be determined on a separate portion taken at the same time of the analysis from the same bottle. It can be done by drying 1 g in an oven at 105 °C until constant mass is attained (successive weighing should not differ by more than 0.2 g).

Treatment with HF is recommended for the determination of total contents.

The digestion procedure used for the determination of the aqua regia soluble contents (DIN 38414-S7) is described in detail in the certification report.

The reference material is intended to verify the performance of a method and not to calibrate a method.

STORAGE

The closed bottle should be stored in a dry place at a maximum temperature of 20 °C. Once opened, the bottle should be stored closed in a dry desiccator; direct prolonged exposure to sunlight should be avoided.

However, the European Commission cannot be held responsible for changes that happen during storage of the material at the customer's premises, especially of opened samples.

LEGAL NOTICE

Neither IRMM, its subsidiaries, its contractors nor any person acting on their behalf.

(a) make any warranty or representation, express or implied that the use of any information, material, apparatus, method or process disclosed in this document does not infringe any privately owned intellectual property rights;

or

(b) assume any liability with respect to, or for damages resulting from, the use of any information, material, apparatus, method or process disclosed in this document save for loss or damage arising solely and directly from the negligence of IRMM or any of its subsidiaries.

NOTE

A technical report on the production of BCR-146R is available on the internet (<http://www.irmm.jrc.be>). A paper copy can be obtained from IRMM on request.

Anexo 2



National Institute of Standards & Technology

Certificate of Analysis

Standard Reference Material[®] 2701

Hexavalent Chromium in Contaminated Soil (High Level)

This Standard Reference Material (SRM) is intended primarily for use in the analysis of waste, soils, sediments, or other materials of a similar matrix. SRM 2701 is a soil, heavily contaminated with chromite ore processing residue (COPR), that has been air-dried, sieved, radiation-sterilized, and blended to achieve a high degree of homogeneity. All constituents in SRM 2701 for which certified, reference, and information values are provided were naturally present in the material before processing. A unit of SRM 2701 consists of approximately 75 g of the dried, radiation-sterilized material in an amber screw-capped glass bottle.

Certified Values: The certified concentrations of hexavalent chromium, total chromium, iron, and manganese in SRM 2701 are given in Table 1. A NIST certified value is a value for which NIST has the highest confidence in its accuracy in that all known or suspected sources of bias have been investigated or taken into account [1]. The certified values are based on the agreement of results from two or more independent analytical methods. The certified value for hexavalent chromium is the unweighted mean of analytical measurements by NIST and three collaborating laboratories. The value is based on the extraction of hexavalent chromium from the material using an approved U.S. Environmental Protection Agency (EPA) SW-846 analytical method (Method 3060A), which was used by all participating laboratories. The certified values for total chromium and iron are the unweighted means of results from three independent analytical methods at NIST. The certified value for manganese is the unweighted mean of results from two independent analytical methods at NIST.

Reference Values: Reference concentration values for aluminum, calcium, magnesium, potassium, sodium, silicon, titanium, and vanadium are provided in Table 2. Reference values are non-certified values that are the best estimate of the true value; however, the values do not meet NIST criteria for certification and are provided with associated uncertainties that may reflect only measurement precision, may not include all sources of uncertainty, or may reflect a lack of sufficient statistical agreement among multiple analytical methods [1]. The reference values are based on the results of measurements from a single method performed at NIST.

Information Values: Information values for sulfide, total organic carbon (TOC), chemical oxygen demand (COD), pH, and oxidation/reduction potential are provided in Table 3 as additional information on the composition and properties of the material. An information value is considered to be a value that will be of interest and use to the SRM user, but for which insufficient information is available to assess adequately the uncertainty associated with the value, or only a limited number of analyses were performed [1]. The information values are based on measurements from a single collaborating laboratory.

Expiration of Certification: The certification of SRM 2701 is valid, within the measurement uncertainties specified, until **31 December 2013**, provided the SRM is handled in accordance with instructions given in this certificate (see "Instructions for Use"). The certification is nullified if the SRM is damaged, contaminated, or otherwise modified.

Maintenance of SRM Certification: NIST will monitor this SRM over the period of its certification. If substantive technical changes occur that affect the certification before the expiration of this certificate, NIST will notify the purchaser. Registration (see attached sheet) will facilitate notification.

Coordination of the technical measurements leading to the certification of SRM 2701 was provided by S.E. Long of the NIST Analytical Chemistry Division.

Stephen A. Wise, Chief
Analytical Chemistry Division

Robert L. Watters, Jr., Chief
Measurement Services Division

Gaithersburg, MD 20899
Certificate Issue Date: 23 September 2009
See Certificate Revision History on Page 4

SRM 2701

Page 1 of 7

Analytical measurements at NIST were performed by W.C. Davis, W.R. Kelly, S.E. Long, J.L. Mann, A.F. Marlow, K.E. Murphy, R.L. Paul, J.R. Sieber, R.O. Spatz, and R.L. Zeisler of the NIST Analytical Chemistry Division.

Measurements for the certification of hexavalent chromium were provided by the following collaborating laboratories: H.M. Kingston of Duquesne University (Pittsburgh, PA), D. Dunlop of TestAmerica (Pittsburgh, PA), and R. Gerads of Applied Speciation and Consulting LLC (Tukwilla, WA). Information values are based on data supplied by C. Armbruster of TestAmerica (Edison, NJ).

The material was collected by S.E. Long of the NIST Analytical Chemistry Division and B.S. MacDonald of the NIST Measurement Services Division in collaboration with S.J. Nagourney of the New Jersey Department of Environmental Protection (NJDEP), Office of Quality Assurance (OQA).

Statistical consultation was provided by Z.Q.J. Lu of the NIST Statistical Engineering Division.

Support aspects involved in the issuance of this SRM were coordinated through the NIST Measurement Services Division.

A multi-laboratory test on the usage of EPA SW-846 methods for hexavalent chromium, leachable chromium, and total chromium in SRM 2701 was conducted by NIST and NJDEP. The results of the study are summarized in Appendix A.

NOTICE AND WARNINGS TO USERS¹

Storage: SRM 2701 must be stored in its original bottle, tightly capped, at temperatures less than 30 °C and away from light.

Handling: This material is a contaminated soil that contains a significant amount of hexavalent chromium. HEXAVALENT CHROMIUM IS A KNOWN CARCINOGEN. Due caution and care should be exercised during its handling and use. This material has been processed to maintain homogeneity and is composed of a particle size distribution that is readily respirable. Stringent precautions should be taken to avoid inhalation of dust during material transfer and in the event of bottle breakage or compromise of the lid seal.

INSTRUCTIONS FOR USE

Use: A minimum sample mass of 200 mg (dry mass – see “Instructions for Drying”) should be used for analytical determinations to be related to the certified values on this Certificate of Analysis. Prior to use, the contents of the bottle should be thoroughly mixed by gently rotating the bottle by hand and inverting several times. As this process may generate electrostatic charges, caution should be exercised when opening the bottle to avoid accidental exposure to the contents.

Instructions for Drying: Samples should be dried for 2 h at 110 °C in a laboratory convection oven to obtain a correction factor for moisture. Correction for moisture is to be made to the data before comparison with the certified values. The approximate mass loss on drying has been found to be in the range of 1.9 % to 2.3 % (n = 6), with a mean of 1.93 %.

Source and Preparation of Material: The material was processed by S.A. Wilson of the United States Geological Survey (USGS) under contract to NIST. The source material was chromite ore-contaminated soil from a location in Hudson County, New Jersey. Material was acquired from a three-acre site behind the Interpretative Center at the Liberty Science Center in Liberty State Park, Jersey City, NJ. By means of a mechanical excavator, samples of soil were collected in metal drums fitted with polyethylene liners to prevent contact between the material and the surface of the drums. The drums were then sealed and shipped to USGS (Lakewood, CO) for processing. At USGS, the soil was removed from the drums, transferred onto plastic-lined cardboard trays, and dried in a forced-air oven operating at room temperature for three days. Once dry, the material was transferred into a series of plastic-lined, five-gallon buckets. The material was then mechanically disaggregated using a ceramic auger and grinding bowl. The oversized material was separated from the soil fraction by sieving through a vibrating 2 mm screen. The fraction that was less than 2 mm was then ground in 25 kg batches using a ceramic-lined ball mill and corundum grinding media for a period of 8 h. The ground material was transferred to a series of five-gallon containers and

¹ Certain commercial equipment, instruments or materials are identified in this certificate to adequately specify the experimental procedure. Such identification does not imply recommendation or endorsement by the National Institute of Standards and Technology, nor does it imply that the materials or equipment identified are necessarily the best available for the purpose.

sealed prior to gamma radiation sterilization at an average dosage rate of 39.1 kGy per container. Upon return to USGS, the material was transferred to a 10 ft³ cross-flow V-blender and allowed to mix for 24 h. The blended material was then finally split into 4 oz. brown glass screw-capped bottles using a custom-designed spinning riffler.

Analytical Methods: The analytical methods used for determination of certified and reference values in SRM 2701 are listed in Table 4.

Homogeneity: The homogeneity of SRM 2701 was assessed by analyzing duplicate samples from 20 bottles selected by stratified random sampling. The material was pressed into briquettes and analyzed by wavelength-dispersive X-ray fluorescence spectrometry using 20 selected elements as indicators. The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) testing. The findings for between-bottle heterogeneity indicated that, at the 95 % confidence level, none of the bottles' contents exhibited statistically significant differences from the rest of the population of the sampled bottles with the exception of the copper content. For chromium, the relative standard deviation (RSD) of the measurements was less than 1 % for an estimated sample size of 170 mg. Results for all elements listed in Table 2 also had RSDs of less than 1 %, with the exception of sodium, which had an RSD of 1.9 % for an estimated sample size of 3 mg.

Table 1. Certified Values for Concentrations of Hexavalent Chromium and Selected Elements

	Mass Fraction ^(a)			
	551.2	mg/kg ±	34.5	mg/kg
Hexavalent Cr ^(b)				
Total Cr	4.26	% ±	0.12	%
Fe	23.73	% ±	0.19	%
Mn	0.2137	% ±	0.0014	%

^(a) Each certified concentration value, expressed as a mass fraction on a dry-mass basis, is an equally weighted mean of the individual sets of results. The uncertainty in the certified value, calculated according to the method described in the ISO Guide [2], is expressed as an expanded uncertainty, U . The expanded uncertainty is calculated as $U = ku_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effects of inherent sources of uncertainty of the measurements and corrections for interferences and species interconversions (hexavalent chromium). The value of the coverage factor, $k = 2$, corresponds to a level of confidence of approximately 95 %.

^(b) As determined after extraction using EPA Method 3060A.

Table 2. Reference Values for Concentrations of Selected Elements

Element	Mass Fraction, % ^(a)			Element	Mass Fraction, % ^(a)		
Al	5.05	±	0.15	Na	0.255	±	0.005
Ca	7.47	±	0.09	Si	4.17	±	0.04
K	0.174	±	0.007	Ti	0.547	±	0.008
Mg	7.47	±	0.17	V	0.236	±	0.011

^(a) Each reference concentration value, expressed as a mass fraction on a dry-mass basis, is an equally weighted mean of the individual sets of results. The uncertainty in the reference value, calculated according to the method described in the ISO Guide [2], is expressed as an expanded uncertainty, U . The expanded uncertainty is calculated as $U = ku_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effects of inherent sources of uncertainty of the measurements and corrections for interferences. The value of the coverage factor, $k = 2$, corresponds to a level of confidence of approximately 95 %.

Table 3. Information Values for Selected Species and Properties

Species/Property	Value	Unit
Chemical oxygen demand (COD)	<10	mg/kg
Redox potential	526	mV
Sulfide	<10	mg/kg
Total organic carbon (TOC)	36900	mg/kg
pH	9.6	

Table 4. Analytical Methods Used for Determination of Certified and Reference Values in SRM 2701

Analyte	Methods
Hexavalent Cr	EPA Method 3060A [3] and EPA Method 6800 [3, 4] performed at collaborating laboratories EPA Method 3060A [3] and speciated isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry (SID-ICP-MS) [4] performed at NIST
Total Cr	Isotope dilution (ID) ICP-MS [5] performed at NIST X-ray fluorescence spectrometry (XRF) following borate fusion preparation performed at NIST Instrumental neutron activation analysis (INAA) performed at NIST
Fe	XRF following borate fusion performed at NIST INAA performed at NIST Prompt gamma activation analysis (PGAA) performed at NIST
Mn	XRF following borate fusion performed at NIST INAA performed at NIST
Al, Ca, K, Mg, Na, Si, Ti, V	XRF following borate fusion performed at NIST

REFERENCES

- [1] May, W., Parris, R., Beck, C., Fassett, J., Greenberg, R., Guenther, F., Kramer, G., Wise, S., Gills, T., Colbert, J., Gettings, R., MacDonald, B.; *Definitions of Terms and Modes Used at NIST for Value-Assignment of Reference Materials for Chemical Measurements*; NIST Special Publication 260-136, U.S. Government Printing Office, Gaithersburg, MD (2000); available at http://www.cstl.nist.gov/nist839/NIST_special_publications.htm.
- [2] JCGM 100:2008; *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*; (ISO GUM 1995 with Minor Corrections), Joint Committee for Guides in Metrology: BIPM, Sevres Cedex, France (2008); available at http://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_100_2008_E.pdf; see also Taylor, B.N.; Kuyatt, C.E.; *Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results*; NIST Technical Note 1297; U.S. Government Printing Office: Washington, DC (1994); available at <http://www.physics.nist.gov/Pubs/contents.html>.
- [3] *Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods*; United States Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste, Washington D.C; available through NTIS, 5285 Port Royal Road, Springfield, VA 22161; also available at <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/main.htm>
- [4] Huo, D.; Kingston, H.M; *Correction of Species Transformations in the Analysis of Cr(VI) in Solid Environmental Samples Using Speciated Isotope Dilution Mass Spectrometry*; *Anal. Chem.* Vol. 72, pp. 5047-5054 (2000).
- [5] Kelly, W.; Murphy, K.; Becker D.; Mann, J.; *Determination of Cr in Certified Reference Material HISS-1, Marine Sediment, by Cold Plasma Isotope Dilution ICP-MS and INAA: Comparison of Microwave Versus Closed (Carius) Tube Digestion*; *J. Anal. At. Spectrom.* Vol. 18, pp. 166-169 (2003).

Certificate Revision History: 23 September 2009 (Editorial changes and additional information added to Table A2 in Appendix A); 23 January 2009 (editorial changes); 13 January 2009 (Original certificate date).

Users of this SRM should ensure that the certificate in their possession is current. This can be accomplished by contacting the SRM Program at: telephone (301) 975-2200; fax (301) 926-4751; e-mail srminfo@nist.gov; or via the Internet at <http://www.nist.gov/srm>.

APPENDIX A

Multi-Laboratory Testing Using Approved U.S. Environmental Protection Agency (EPA) Analytical Methods: Method 3060A, Method 7196A, Method 7199, and Method 6800 (Hexavalent Chromium), Method 3050 (Leachable Chromium), and Method 3052 (Total Chromium)

The certified values of inorganic constituents in most National Institute of Standards and Technology (NIST) chemical composition Standard Reference Materials (SRMs) reflect the total absolute concentration of each measurand in the given SRM matrix. The certified concentrations are based on rigorous measurements obtained by well-characterized primary methods, or two or more independent methods or techniques. If dissolution of the matrix is necessary, the measurement approach generally requires complete sample decomposition, which can usually be achieved in a high-pressure digestion system such as a Carius tube. Alternatively and where applicable, the sample may also be analyzed nondestructively.

For environmental monitoring purposes, the concentrations of labile or extractable fractions of elements are often more useful than total concentrations. Concentrations of labile or extractable fractions are generally determined using relatively mild leach conditions, which are unlikely to totally decompose the sample. Reported concentrations of labile or extractable fractions of elements are generally lower than total absolute concentrations; recovery can be total only if an element in a given sample is completely labile. The recovery of an element as a percentage of the total concentration is a function of several factors that are defined by the sample matrix and the measurement method conditions.

In its monitoring programs, the U.S. EPA has promulgated a number of analytical methods to determine toxic elements, or element species, in soils, sediments, and sludges. The EPA publication SW-846, *Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods* [3], is the official compendium of analytical and sampling methods compiled by the EPA Office of Solid Waste (OSW). The methods have been evaluated and approved for use in accordance with the 1976 Resource Conservation and Recovery Act (RCRA). SW-846 Methods 3060A, 7196A, 7199, and 6800 are applicable to the measurement of hexavalent chromium, while Methods 3050 and 3052 are applicable to measurements of leachable chromium and total chromium respectively. Method 3060A is currently the best available analytical method for the extraction of hexavalent chromium from solid matrices and preservation of the oxidation state prior to analytical determinations using other finishing methods such as 7196A (colorimetric), 7199 (ion chromatography with post-column derivatization), and 6800 (elemental and speciated isotope dilution mass spectrometry). Method 3060A was used as the common basis for the certified value of hexavalent chromium in SRM 2701. Method 3050 is a strong acid leachable digestion method intended for the dissolution of elements that are environmentally available, while Method 3052 employs microwave-assisted digestion of solid samples, which is intended to provide almost complete decomposition of the sample, including silica, primarily using concentrated nitric acid and hydrofluoric acid combined with microwave heating.

To assess the performance of these SW-846 methods for the determination of hexavalent chromium, leachable chromium, and total chromium in SRM 2701 and to provide data that are relevant to users of these SW-846 methods, a multi-laboratory test was organized jointly by NIST and the New Jersey Department of Environmental Protection (NJDEP), Office of Quality Assurance (OQA) involving 22 participating laboratories listed in Table A1. Stratified random samples of SRM 2701 were distributed to a number of collaborating laboratories who were asked to measure the hexavalent chromium, leachable chromium, and/or total chromium concentrations in the material. Several laboratories provided replicate analyses for each data set from which the mean was calculated. The means of all the data sets forwarded by each laboratory are compiled by method in Table A2 and include summary statistics together with the percent recovery relative to the certified value.

Please note that none of the values in Table A2 are certified; these values are provided as information on the typical relative performance of the various EPA SW-846 methods for the determination of hexavalent chromium and total chromium in SRM 2701. The data should not be used for any other purpose. **The certified values, provided in Table 1 of the Certificate of Analysis, are the best estimates of the true concentrations.**

Table A1. Laboratories Participating in the Multi-laboratory Study of SRM 2701 Usage with SW-846 Methods
(Appendix A)

S. Nagourney
New Jersey Department of Environmental Protection
Office of Quality Assurance
Trenton, NJ, USA

S. Wilson
U.S. Geological Survey
Lakewood, CO, USA

D. Speis
Accutest Laboratories
Dayton, NJ, USA

L. Call
ALS Laboratory Group
Environmental Division
Smithfield, NSW, Australia

R. Gerads
Applied Speciation and Consulting, LLC
Tukwila, WA, USA

L. Reyes
Columbia Analytical Services
Rochester, NY, USA

D. Thomas
Dionex Corporation
Sunnyvale, CA, USA

H.M. Kingston
Duquesne University
Department of Chemistry and Biochemistry
Pittsburgh, PA, USA

J. DuPont
DHL Analytical, Inc.
Round Rock, TX, USA

B. Goyette
EMT
Morton Grove, IL, USA

C. Huff
Environmental Resource Associates
Arvada, CO, USA

J. Blouin
Direction du Laboratoire des Pollutions Industrielles
Center D-Expertise en Analyse Environnementale du Quebec
Laval, Quebec, Canada

M. Goss
Kentucky Department of Environmental Protection
Frankfort, KY, USA

A. Doupe
Lancaster Laboratories
Lancaster, PA, USA

J. Ghandi
Metrohm-Peak
Houston, TX, USA

V. Shah
City of New York
Department of Environmental Protection
Wards Island, NY, USA

C. Nowlan
Pace Analytical Services, Inc.
Minneapolis, MN, USA

B. Buckley
Rutgers University
Environmental and Occupational Health Sciences Institute
Piscataway, NJ, USA

C. Armbruster
TestAmerica, Edison
Edison, NJ, USA

D. Dunlap
TestAmerica, Pittsburgh
Pittsburgh, PA, USA

M. Nash
Thermo Electron Corporation
Winsford, Cheshire, UK

O.X.N. Donard
University of Pau
HELIOPARC
Pau, France

Table A2. Multi-Laboratory Concentration Data (Dry-Mass Basis) for SRM 2701 by SW-846 Methods

Data Set	Method 7196A Hexavalent Cr mg/kg	Method 7199 Hexavalent Cr mg/kg	Method 6800 Hexavalent Cr mg/kg	Method 3050 Leachable Cr % mass fraction	Method 3052 Total Cr % mass fraction
1	503.8	389.1	553.0	0.294	1.025
2	314.3	354.4	568.7	0.384	
3	415.7	461.6	529.8	0.465	
4	408.7	391.1	549.4	0.514	
5	399.9	405.7	575.2	0.317	
6	326.2	363.3	544.3	0.255	
7	266.0	358.6		0.360	
8	500.5	557.2		0.597	
9	351.7	414.2		0.441	
10	364.9	274.2		0.833	
11	336.7	393.8		0.236	
12	469.2	439.3		0.235	
13	338.4	270.4			
14		368.3			
Mean	384.3	388.7	553.4	0.411	1.025
SD ^(a)	73.5	72.1	16.5	0.175	
RSD ^(b)	19.1	18.5	3.0	42.7	
Median	364.9	390.1	551.2	0.372	
Minimum	266.0	270.4	529.8	0.235	1.025
Maximum	503.8	557.2	575.2	0.833	1.025
# Labs ^(c)	12	10	3	10	1
# Measurements ^(d)	13	14	6	12	1
Recovery (%) ^(e)	69.7	70.5	100.4	9.6	24.1

^(a) Standard deviation

^(b) Relative standard deviation

^(c) Number of laboratories reporting data sets

^(d) Number of data sets reported by all laboratories

^(e) Mean recovery for the method relative to the certified value expressed as a percentage