

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO “STRICTU SENSU” EM
ENGENHARIA QUÍMICA – NÍVEL DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO E APLICAÇÃO DE METODOLOGIA DA TÉCNICA
ESPECTROMÉTRICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR REFLEXÃO
TOTAL (TXRF) NA CARACTERIZAÇÃO MULTIELEMENTAR EM
PARTICULADOS SÓLIDOS DE AMOSTRAS AMBIENTAIS**

JOELMIR DOS SANTOS

TOLEDO - PR
2016

JOELMIR DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO E APLICAÇÃO DE METODOLOGIA DA TÉCNICA
ESPECTROMÉTRICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR REFLEXÃO
TOTAL (TXRF) NA CARACTERIZAÇÃO MULTIELEMENTAR EM
PARTICULADOS SÓLIDOS DE AMOSTRAS AMBIENTAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em cumprimento parcial aos requisitos necessários a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, área de concentração monitoramento ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones.

TOLEDO - PR
2016

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária
UNIOESTE/Campus de Toledo.
Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

S237a Santos, Joelnir dos
Avaliação e aplicação de metodologia da técnica espectrométrica de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (TXRF) na caracterização multielementar em particulados sólidos de amostras ambientais / Joelnir dos Santos. -- Toledo, PR : [s. n.], 2016. xi ; 138 f. : il. (algumas color.), figs. tabs.

Orientador: Dr. Fernando Rodolfo Espinoza-Quiñones
Dissertação (Mestre em Engenharia Química) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo. Centro de Engenharias e Ciências Exatas.

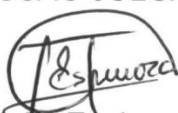
1. Engenharia química - Dissertações 2. Espectrometria 3. Fluorescência de raios x 4. Material particulado 5. Meio ambiente - Contaminação - Metais pesados 6. Estatística multivariada I. Espinoza-Quiñones, Fernando Rodolfo, Or. II.T

CDD 20. ed. 660.2
543.0858

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

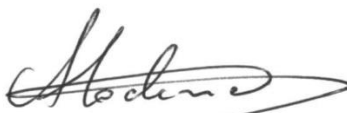
Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por JOELMIR DOS SANTOS a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 29 de fevereiro de 2016.

COMISSÃO JULGADORA



Prof. Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones (Orientador)

Orientador



Prof. Dr. Aparecido Nivaldo Módenes

Membro



Prof. Dr. Douglas Cardoso Dragunski

Membro



Prof. Dr. Rafael Bertolini Frigori

Membro

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Henrique Foram dos Santos (*in memoriam*) e Alaide Dias dos Santos, bem como a toda minha família pelo amor, companhia e por todo apoio. Serei eternamente grato.

Em especial ao orientador Professor Doutor Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones pelo vasto conhecimento compartilhado, pela amizade, confiança e auxílio durante todos os momentos de trabalho.

A todos os professores com os quais tive o prazer de conviver durante o período de mestrado, sendo estes fundamentais para minha formação profissional.

A Aline, Ariádine e a Ana Paula, pelas informações compartilhadas.

Aos colegas de classe e de convívio geral, pela amizade e companheirismo.

Aos amigos Chang, Nancy, Guilherme, Kenji, dentre outros que me apoiaram em momentos difíceis desta minha jornada, irei sempre lembrar.

A todos os funcionários da Universidade Estadual do Oeste do Paraná pelo apoio prestado.

A CAPES pelo apoio financeiro.

A Deus.

Meus sinceros agradecimentos.

“As Leis [naturais] não são forças externas às coisas, mas representam a harmonia do movimento a elas imanente [...] Seu Tao está em perpétua Mutação - Modifica o, movimento sem descanso, fluindo através de seis posi es vazias; Subindo e descendo sem cessar [...] Aqui, só a Mudança atua.”

Richard Wilhelm,

I Ching – O livro das muta es.

SUMÁRIO

| | |
|---|------|
| LISTA DE FIGURAS | vii |
| LISTA DE TABELAS | viii |
| RESUMO | ix |
| ABSTRACT | xi |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 4 |
| 2.1 Problemática ambiental..... | 4 |
| 2.1.1 A questão ambiental na região oeste do Paraná..... | 7 |
| 2.2 Determinações Elementares | 10 |
| 2.2.1 Técnicas espectrométricas atômicas..... | 10 |
| 2.2.2 Técnicas espectrométricas atômicas por processo de absorção..... | 12 |
| 2.2.3 Técnicas espectrométricas atômicas por processo de emissão..... | 13 |
| 2.2.4 Técnicas espectrométricas atômicas por processo de Fluorescência .. | 15 |
| 2.3 Espectroscopia de Raios X | 16 |
| 2.3.1 Efeito fotoelétrico | 17 |
| 2.3.2 Espalhamentos Rayleigh e Compton..... | 17 |
| 2.3.3 Efeito Auger..... | 18 |
| 2.3.4 Produção de raios X | 19 |
| 2.3.5 Linhas espectrais advindas da fluorescência de raios X | 21 |
| 2.3.6 Lei de Bragg | 24 |
| 2.4 Fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF)..... | 25 |
| 2.4.1 Aplicações de TXRF | 25 |
| 2.4.2 Aplicações a amostras líquidas | 28 |
| 2.4.3 Aplicações a amostras sólidas..... | 29 |
| 2.5 Tratamento Estatístico de dados experimentais | 31 |
| 2.5.1 Calibração preliminar e Estatística descritiva | 32 |
| 2.5.2 Estatística multivariada de dados | 34 |
| 3 MATERIAIS E MÉTODOS | 36 |
| 3.1 Instrumental e material de preparo de amostras..... | 36 |
| 3.1.1 Reagentes | 37 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.1.2 | Procedimentos analíticos..... | 37 |
| 3.1.3 | Aferição de instrumentos analíticos..... | 38 |
| 3.1.4 | Limpeza dos refletores de quartzo..... | 38 |
| 3.2 | Instrumental de caracterização da composição..... | 39 |
| 3.2.1 | Espectrômetro de Fluorescência de Raios X com reflexão total..... | 39 |
| 3.2.2 | Quantificação elementar..... | 42 |
| 3.2.3 | Limite de detecção..... | 42 |
| 3.3 | Testes de controle de qualidade do equipamento..... | 43 |
| 3.3.1 | “Correção de ganho” ou <i>Gain Correction</i> | 44 |
| 3.3.2 | Resolução espectroscópica (FWHM)..... | 44 |
| 3.3.3 | Sensibilidade..... | 45 |
| 3.3.4 | Acurácia na quantificação..... | 45 |
| 3.4 | Preparo de amostras em pó..... | 46 |
| 3.4.1 | Sedimento de rio (<i>Buffalo River 8704</i> ou MRC 8704)..... | 48 |
| 3.4.2 | Fígado Bovino (<i>Bovine Liver 1577c</i> ou MRC 1577c)..... | 49 |
| 3.4.3 | Farinha de Ossos (<i>Bone Meal 1486</i> ou MRC 1486)..... | 50 |
| 3.4.4 | Músculo de Peixe Cação (<i>Dogfish Muscle</i> ou DORM-2)..... | 51 |
| 3.4.5 | Farinha de Arroz (<i>Rice Flour 1568a</i> ou MRC 1568a)..... | 52 |
| 3.4.6 | Folha de Tomate (<i>Tomato Leaves 1573a</i> ou MRC 1573a)..... | 52 |
| 3.4.7 | Amostras de sedimento do córrego Bezerra..... | 53 |
| 3.5 | Análise Estatística dos dados..... | 55 |
| 3.5.1 | Cálculos e considerações estatísticas..... | 55 |
| 3.5.2 | Métodos e técnicas computacionais para análise..... | 59 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 60 |
| 4.1 | Materiais de Referência certificados (MRC's)..... | 60 |
| 4.1.1 | Sedimento de rio (<i>Buffalo River 8704</i>)..... | 61 |
| 4.1.2 | Fígado Bovino (<i>Bovine Liver 1577c</i>)..... | 65 |
| 4.1.3 | Farinha de Ossos (<i>Bone Meal 1486</i>)..... | 67 |
| 4.1.4 | Músculo de Peixe Cação (<i>Dogfish Muscle</i>)..... | 69 |
| 4.1.5 | Farinha de Arroz (<i>Rice Flour 1568a</i>)..... | 71 |
| 4.1.6 | Folha de Tomate (<i>Tomato Leaves 1573a</i>)..... | 72 |
| 4.1.7 | Conclusões referentes à aplicabilidade..... | 74 |
| 4.2 | Análise de sedimento do córrego Bezerra..... | 76 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 4.2.1 | Característica dos pontos de coleta..... | 76 |
| 4.2.2 | Análises estatísticas realizadas..... | 76 |
| 4.2.3 | Resoluções Ambientais | 80 |
| 4.2.4 | Análise multivariada dos dados | 81 |
| 5 | CONCLUSÃO..... | 87 |
| 6 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 88 |
| | ANEXOS | 102 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 2.1 - Bacias hidrográficas e principais cidades do estado do Paraná | 8 |
| Figura 2.2 - Tipo de alteração quântica versus resposta espectroscópica | 12 |
| Figura 2.3 - Absorção fotoelétrica. A) Fóton incidente chega ao átomo, B) Elétron de camada interna é ejetado deixando vacância, C) Elétron de camada mais energética decai e ocupa a vacância e emitindo fluorescência | 17 |
| Figura 2.4 - Efeitos Compton e Rayleigh | 18 |
| Figura 2.5 - Efeito Auger | 19 |
| Figura 2.6 - Produção de radiação característica: representação simplificada das Subcamadas e elétrons transferidos | 20 |
| Figura 2.7 - Esquema de funcionamento do TXRF.. | 21 |
| Figura 2.8 - Diagrama de transições eletrônicas. | 24 |
| Figura 2.9 - Efeito Bragg para reflexão sobre a multicamada | 25 |
| Figura 2.10 - Elementos quantificados por TXRF com tubo de Mo. | 28 |
| Figura 3.1 - TXRF modelo S2PICOFOX™ | 41 |
| Figura 3.2 - Esquema para preparo de amostra sólida..... | 47 |
| Figura 3.3 – Fotos ilustrando o procedimento experimental..... | 47 |
| Figura 3.4 - Pontos de coleta das amostras..... | 54 |
| Figura 3.5 - Amostras de sedimento antes e depois da moagem.. | 55 |
| Figura 3.6 - Discos de quartzo contendo amostras de sedimento..... | 55 |
| Figura 4.1 - Espectro de TXRF para amostra de sedimento de rio (MRC 8704).. | 62 |
| Figura 4.2 - Limite de detecção (em mg/kg) médio dos elementos mensurados . | 64 |
| Figura 4.3 - Espectro de TXRF para amostra de Fígado bovino (MRC 1577c).... | 66 |
| Figura 4.4 - Espectro de TXRF para amostra de Farinha de ossos (MRC 1486). 68 | |
| Figura 4.5 - Espectro de TXRF para amostra de Músculo de Peixe Cação (<i>Dogfish Muscle</i>)..... | 69 |
| Figura 4.6 - Espectro de TXRF para amostra de Farinha de arroz (MRC 1568a). 71 | |
| Figura 4.7 - Espectro de TXRF para amostra de Folha de tomate (MRC 1573a). 73 | |
| Figura 4.8 - Comparação entre valores do limite de detecção médio para as matrizes..... | 75 |
| Figura 4.9 - Espectro de TXRF para amostra de sedimento do córrego Bezerra. 77 | |
| Figura 4.10 - Índice de precipitação pluviométrica na cidade de Cascavel nos Meses de coleta. Fonte dos dados: SIMEPAR | 78 |
| Figura 4.11 - Distribuição dos dados em relação aos Fatores 1 e 2.. | 79 |
| Figura 4.12 - Variância total (%) em relação aos fatores gerados..... | 83 |
| Figura 4.13 - Representação da variação entre os 3 pontos de coletas em relação ao fator 1. | 84 |
| Figura 4.14 - Representação da variação entre os 3 pontos de coletas em relação ao fator 2. | 84 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 2.1 - Dados relativos ao município de Cascavel..... | 9 |
| Tabela 2.2 - Notação espectroscópica para os níveis e sub-níveis atômicos | 23 |
| Tabela 3.1 - Parâmetros operacionais do S2 PICOFOX™..... | 41 |
| Tabela 3.2 - Parâmetros monitorados regularmente em um TXRF | 43 |
| Tabela 3.3 - Localização dos pontos de coleta | 53 |
| Tabela 4.1 - Valores de Referência pelo certificado oficial Buffalo River (MRC 8704) versus média experimental obtida, com os parâmetros estatísticos da análise realizada..... | 63 |
| Tabela 4.2 - Valores Referência pelo certificado oficial Bovine Liver (MRC 1577c) versus média experimental obtida, com os parâmetros estatísticos da análise realizada | 66 |
| Tabela 4.3 - Valores Referência pelo certificado oficial Bone Meal (MRC 1486) versus média experimental obtida, com os parâmetros estatísticos da análise realizada..... | 68 |
| Tabela 4.4 - Valores Referência pelo certificado oficial Dogfish Muscle versus média experimental obtida, com os parâmetros estatísticos da análise realizada | 70 |
| Tabela 4.5 - Valores Referência pelo certificado oficial Rice Flour (1568a) versus média experimental obtida, com os parâmetros estatísticos da análise realizada | 72 |
| Tabela 4.6 - Valores Referência pelo certificado oficial Tomato Leaves (1573a) versus média experimental obtida, com os parâmetros estatísticos da análise realizada..... | 73 |
| Tabela 4.7 - Estatística descritiva relativa aos dados gerais obtidos | 77 |
| Tabela 4.8 - Média das concentrações elementares e desvio-padrão obtidos ao longo de 3 pontos do córrego Bezerra. | 79 |
| Tabela 4.9 - Valores orientadores para concentração elementar em solos e água subterrânea | 81 |
| Tabela 4.10 - Matriz de correlação..... | 83 |
| Tabela 4.11 - Análise de influência do Fator em relação aos pontos e as coletas | 85 |
| Tabela 4.12 - Coeficientes de correlação de Spearman significativos a um nível de confiança de 95% para os elementos químicos contidos no sedimento | 85 |

SANTOS, Joelmir dos. *Avaliação e aplicação de metodologia da técnica espectrométrica de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (TXRF) na caracterização multielementar em particulados sólidos de amostras ambientais*. 2016. Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo a avaliação e aplicação de metodologia para análise multielementar por meio da espectrometria de fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF), a fim de fornecer medidas de concentração de analitos com acurácia e precisão. Usando a energia e a intensidade das linhas espectrais de raios X característicos, uma série de elementos químicos foram identificados e quantificados, respectivamente, com concentração abaixo de parte por milhão até poucas partes por bilhão, principalmente para metais de transição. A fim de garantir a confiabilidade e reprodutibilidade estatística, foi aplicada uma metodologia que se baseia na deposição de particulados finos, menores que 50 μm , representativos da amostra e uniformemente distribuídos sobre um refletor plano de quartzo, previamente limpo, na condição angular de máxima refletividade de raios X monocromáticos. Para garantir a uniformidade no suporte e a representatividade da amostra, uma série de réplicas de quantidades específicas de amostras, na forma de um pó fino, foi adicionada em solução orgânica viscosa diluída contendo uma concentração conhecida de um elemento na qualidade de padrão interno. Uma alíquota da solução viscosa contendo ambos o particulado de amostra em suspensão e o padrão interno foi depositada no centro do refletor de quartzo e seca, obtendo-se uma camada fina de particulado. Primeiramente, o instrumental TXRF foi previamente avaliado quanto a operação, resposta espectral e recuperação de concentrações de metais de transição de uma amostra de teste fornecido pelo fabricante. A reprodutibilidade das medidas de concentração elementar foi testada com uma combinação da série de réplicas experimentais (cinco) e analíticas (três) para cada tipo de matriz de amostras ambientais, chamadas de Materiais de Referência Certificados ou MRC. Foram testados seis tipos de MCRs: sedimento de rio, folhas de tomate, arroz, músculo de peixe, osso e fígado bovino. Foram processados estatisticamente a série de dados de concentrações elementares de cada MCR, obtendo-se o valor médio e incerteza da concentração de cada analito

de referência o qual foi comparado ao reportado nos laudos técnicos dos MCR. Considerando o caráter multielementar da técnica TXRF, verificou-se uma boa recuperação, em torno de 100%, da maioria das concentrações referenciadas e certificadas dos analitos nos seis MCRs, dentro da margem de variabilidade dos resultados encontrados pela técnica TXRF e reportados pelos laudos. Verificou-se também que o limite de detecção depende da densidade da matriz do material sob estudo. Contudo, os elementos de transição foram os que apresentaram os menores valores de limites de detecção. Tendo a boa recuperação das concentrações de analitos majoritários no material de referência sedimento *Buffalo River*, foi aplicada a mesma metodologia para análise de material de sedimento do córrego Bezerra-Cascavel que foi coletado em três locais ao longo dele e por um período de três anos. Uma série de elementos químicos foram identificados através de suas linhas espectrais $K\alpha$ e $L\alpha$, e quantificados seguindo o método do padrão interno. O conjunto de dados de concentração foi processado estatisticamente do ponto de vista da normalidade dos dados e feita uma análise de componentes principais, revelando uma sistemática presença de altas concentrações de metais pesados, tais como chumbo e cromo, comparativamente maiores daqueles preconizados pela atual legislação ambiental (CONAMA 420/2009) quanto aos limites máximos permissíveis.

Palavras-chave: Concentração de metais em partículas; elementos majoritários, intermediários e traço; análise estatística de dados; técnica FRX; validação estatística.

SANTOS, Joelmir dos. *Evaluation and technical application of the methodology of the total reflection X-Ray Fluorescence spectrometry (TXRF) in multi-element characterization of particulate solids from environmental samples*. 2016. West of Paraná State University.

ABSTRACT

This study aimed the evaluation and application of methodology for multielement analyses by total reflection X-ray fluorescence spectrometry (TXRF) in order to provide analyte concentration measurements with accuracy and precision. Using the energy and intensity of the spectral lines of characteristic X-ray, a series of chemicals were identified and quantified, respectively, with a concentration below part per million to a few parts per billion, especially for transition metals. To ensure statistical reliability and reproducibility, a methodology based on the deposition of fine particles, less than 50 μm , representative sample and uniformly spread on a quartz flat reflector, which was extremely clean and positioned at the angular condition of maximum reflectivity of monochromatic X-rays was applied. To ensure uniformity on the support surface and the sample representativeness, a number of replicas of specific quantities of samples, in the form of a fine powder was added in a diluted viscous organic solution containing a well-known concentration of an element choosing as internal standard. An aliquot of the viscous solution containing both the suspended particulate sample and an internal standard was deposited at the center of the quartz reflector and dried, yielding a very thin layer of particulates. First, the instrumental TXRF was previously evaluated for its operation, spectral response and recovery of transition metal concentrations in a test sample supplied by the manufacturer. The reproducibility of the elemental concentration measurements was tested with a combination of the number of experimental replicates (five) and analytical (three) for each type of environmental matrix samples, namely certified reference materials or CRMs. Six types of CRMs were tested: river sediment, tomato leaves, rice, fish muscle, bone and bovine liver. The data were statistically processed data, resulting in a series of average and uncertainty values of the analyte concentrations was compared to certified reference values, reported in the technical reports of CRM. Regarding the multielement

character of the TXRF technique, there was a good recovery, about 100%, for most of the certified concentrations of the referenced analytes in the six CRMs within the margin of variability of results found by both the TXRF technique and reports. It was also found that the detection limit depends on the density matrix of the material under study. However, the transition elements were those with the lowest values of detection limits. Having a good recovery of majority analyte concentrations in Buffalo River sediment reference material, the same methodology was applied to sediment material analysis of Bezerra stream that was collected in three locations and for a period of three years. A number of chemicals has been identified through their spectral lines $K\alpha$ and $L\alpha$ and quantified following the internal standard method. The set of concentration data was statistically processed from the point of view of the normality of the data and an analysis of principal components, revealing a systematic presence of high concentrations of heavy metals such as lead and chromium, comparatively higher those recommended by current environmental legislation (CONAMA 420/2009) as the maximum permissible limits.

Keywords: Metal concentration analysis in particulate; main and trace elements; data statistical analysis; developed and validated XRF methodology.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos houve um crescente interesse da sociedade em geral pela problemática ambiental, gerando uma maior visibilidade do tema e conseqüentemente maior quantidade de estudos e controle por parte dos órgãos responsáveis por tal ação. Isso favorece um maior controle dos efeitos da ingerência humana na degradação da qualidade dos recursos hídricos pelo despejo de águas residuais ou industriais cuja consequência é a entrada de substâncias que possui efeitos tóxicos ao ambiente (BAHADIR *et al.*, 2015). Dentre os fatores responsáveis pela contaminação ambiental podem-se citar as causas naturais, a atividade industrial e a ocupação irregular de áreas sensíveis às atividades humanas, afetando a fauna e a flora de determinada localidade. Essas atividades geram grande impacto ao meio ambiente no qual estão inseridas. Frequentemente há despejos de efluentes industriais irregulares, deposição de lixo próximos a córregos e mananciais, destruição direta da biota nos arredores devida à ocupação de espaço para construções, etc. Dentre os contaminantes gerados pelos efluentes industriais, pode-se destacar os poluentes inorgânicos chamados de metais pesados tais como chumbo, cádmio, cromo, mercúrio, manganês e níquel (BORGESE *et al.*, 2011; MARGUÍ *et al.*, 2010) os quais são introduzidos ao meio ambiente por ações antrópicas (fonte domésticas e industriais), somando-se aos constituintes elementares presentes no ambiente por meio de fenômenos naturais (OSÁN *et al.*, 2002).

Os efeitos dos componentes inorgânicos metálicos no organismo humano são diversos, dentre os quais se destacam: a mortalidade por doenças respiratórias e cardiovasculares; os problemas neurológicos; a associação com a redução da função pulmonar e do crescimento; a possibilidade de conduzir no indivíduo o aparecimento de doenças autoimunes como mal de Parkinson, entre outros efeitos possíveis (LOHREN *et al.*, 2015; BORGESE *et al.*, 2011; ZEREINE *et al.*, 2005; LUCCHINE *et al.*, 2007). Obviamente, os efeitos tóxicos dos elementos supracitados possuem maior severidade em grupos com maior vulnerabilidade como gestantes, idosos e crianças. A legislação ambiental regida pelas resoluções 357 e 420 que trata sobre a qualidade dos recursos hídricos e referente aos solos, respectivamente, emitidas pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA,

2012), apresenta os valores máximos permitidos para concentração elementar, quanto ao despejo de substâncias caracterizadas como fontes poluidoras, prescreve que os efluentes deverão passar por tratamentos físico-químicos e/ou biológicos de modo a atender aos requisitos de preservação da biota nos arredores da descarga desses resíduos. Sendo assim, estudos de monitoramento das características físico-químicas e composição elementar dos diversos compartimentos aquáticos, entre eles o sedimento, com a aplicação de técnicas analíticas confiáveis na identificação e quantificação de contaminantes orgânicos e/ou inorgânicos em ecossistemas aquáticos afetados por despejos industriais ou de outras fontes antrópicas, são fundamentais no sentido da observância das normas ambientais e na tentativa da recuperação do meio ambiente por contaminantes antrópicos.

Nesse sentido, as técnicas multielementares, baseadas na espectrometria atômica (por absorção, emissão e/ou fluorescência), tornam-se fundamentais no sentido de realizar medidas confiáveis, de modo rápido e preciso, do estado de preservação ou da qualidade de um dado ambiente. Entre as vantagens das análises realizadas por técnicas como ICP-OES (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado) ou ICP-MS (Espectroscopia de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado), podem-se citar: a exatidão; a precisão e os baixos limites de detecção, da ordem de nanogramas (XOU & JONES, 2000; BADOCCO *et al.*, 2015). Entretanto, possuem como desvantagem um alto custo operacional. Contudo, a técnica conhecida como Espectroscopia de Fluorescência Total de Raios X ou *Total reflection X-ray Fluorescence* (TXRF) vem ao encontro com estas vantagens e na redução do custo operacional, fornecendo análises com qualidade bem semelhante, além de ser de caráter multielementar e possibilidade de aplicação a amostras sólidas, sem que haja a necessidade de abertura química da mesma.

Visando o fornecimento de medidas tanto qualitativas quanto quantitativas, com elevada precisão e acurácia em diversas matrizes ambientais, é proposto a avaliação dos parâmetros metodológicos de análise por TXRF. Sendo assim, objetivou-se a aferição desta metodologia; a recuperação de uma série de elementos inorgânicos em matrizes de divergente constituição, cujas concentrações foram certificadas por outras técnicas espectrométricas de elevada sensibilidade elementar, exatidão e precisão; e a aplicação da técnica à amostras

ambientais reais obtidas do córrego Bezerra, em Cascavel, localizado na região oeste do estado do Paraná. Convém destacar que, as matrizes utilizadas para aferição são conhecidas como Materiais de Referência Certificados (MRC's) e amplamente utilizados na validação de metodologias espectrométricas, bem como em análises em amostras que requeiram laudo técnico de composição elementar atestado e/ou certificado por testes de controle de qualidade da análise. Tendo em vista sua aplicação, a presente proposição exige a necessidade da aferição da metodologia da espectrometria TXRF, sob o teste de recuperação elementar de amostras MRCs, tanto de metais de transição e pesados quanto de outros elementos, encontrados em matrizes orgânicas, como fósforo, potássio, enxofre, etc. Adicionalmente, foi realizado o estudo da composição elementar de sedimento de rio como aplicação da metodologia aferida, na perspectiva de encontrar indicadores inorgânicos da influência humana na alteração da qualidade do meio ambiente.

Desse modo, o presente estudo justifica-se pela necessidade de realizar o monitoramento de contaminantes em ambientes com evidente interferência antrópica (passíveis de contaminação proveniente de fontes industriais), partindo da premissa da aferição de metodologia confiável para análise de sólidos baseada a técnica espectrométrica de TXRF. A primeira parte desse estudo baseou-se na recuperação das quantidades elementares de MRCs em amostras preparadas de acordo com as peculiaridades e especificidades características da técnica TXRF. O alcance dos resultados apresentados segue a reprodução dos valores elementares, descritos no laudo técnico de seis materiais certificados sólidos, enfatizando: a reprodutibilidade das medidas para diferentes matrizes e a caracterização de qualquer material, como por exemplo, amostras de sedimento córrego Bezerra localizado na cidade de Cascavel, levando-se em conta a necessidade de uma avaliação trimestral ao longo dos anos de 2012 a 2014 da deposição de elementos. Adicionalmente, fez-se o tratamento estatístico dos dados obtidos, por meio de uma análise multivariada de dados, focando-se no estudo das correlações espaciais e temporais, tais como a distribuição de dados, as componentes principais a fim de mostrar o grau de confiabilidade dos resultados obtidos, o que possibilitou a comparação destes às normas ambientais vigentes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Problemática ambiental

Atualmente tem sido elencada, por diversos mecanismos informativos, a importância da preservação do meio ambiente, bem como a recuperação de áreas afetadas por contaminações introduzidas no meio ambiente. Com o crescente interesse, tanto da população em geral quanto por centros de pesquisa pela problemática ambiental, torna-se oportuno o desenvolvimento de metodologias confiáveis que facilitem a identificação/caracterização de eventuais fontes/substâncias poluentes num determinado compartimento de ecossistemas aquáticos, e que a partir destas, possa ser tomadas as devidas providências por parte dos órgãos responsáveis. A utilização do espaço urbano é gradativamente crescente, gerando conflitos entre os interesses humanos e o ambiente circundante, o que afeta a climatologia do meio como um todo (HEBBERT, 2014; OIAMO *et al.*, 2012). Pode-se citar como um caso severo, a ocupação urbana irregular, que ocorre inadvertidamente, impactando o ambiente com dejetos e modificando o ambiente circundante. Outros fatores relevantes, com relação à problemática ambiental, são os subprodutos oriundos das atividades humanas, dentre as quais se podem destacar: a atuação de industrial; o descarte inadequado de lixo doméstico; o tráfego urbano; a atividade agrícola, entre outros. Tendo-se como base a problemática, envolvendo a ação do homem com meio ambiente, no qual está inserido e relacionando-a aos mananciais presentes naturalmente no espaço urbano, pode-se afirmar que a crescente preocupação, no sentido de preservação, requer um prévio conhecimento do grau de impacto, o que é obtido através do monitoramento ambiental.

A ocorrência de elementos-traço, como por exemplo, metais de transição, tanto na água como em sedimentos e solos tem sido diversa, possivelmente como consequências do tipo de rochas e solos da região (liberados da rocha matriz por intemperismo), da poluição antropogênica (gerada a partir de resíduos depositados no ambiente) e/ou por reações químicas, com a adsorção de partículas e outras superfícies e deposição nos sedimentos (GUILHERME *et al.*, 2005). Desse modo, a ocorrência de metais pesados é, em geral, relacionada a causas naturais.

Entretanto, as atividades antrópicas podem adicionar materiais que contêm esses elementos aos solos, os quais podem atingir concentrações muito altas, que comprometem a qualidade do ecossistema supracitado (BAHADIR *et al.*, 2015), uma vez que a ação humana ocorre, geralmente, de modo depredatório. A contaminação de ambientes, por tais elementos e o aumento na concentração destes, gera vários problemas a biota e a saúde humana (OIAMO *et al.*, 2015).

Os efeitos da poluição ambiental são severos no organismo humano. Segundo o *Health Effects Institute* (HEI, 2010), contaminantes gasosos, oriundos tanto da atividade industrial quanto pelo tráfego de veículos automotores, geram a poluição do ar que está associada à morbidade, com surgimento de doenças cardiopulmonares, ou à mortalidade, por causas cardiopulmonares. Tais efeitos também constam em outros documentos oficiais, tais como *The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General em Department of Health and Human Services* (UNITED STATES, 2004). Esses contaminantes gasosos podem estar dispersos na forma de particulados, dentre os quais se destacam os oriundos de indústrias de processamento de metais pesados supracitados como cádmio, chumbo, cromo, mercúrio e manganês.

O elemento cádmio está presente em muitas utilizações industriais, tais como revestimentos anticorrosivos de metais, pigmentos e estabilizadores de plástico. No entanto, tal elemento químico está, comumente, associado à contaminação de ecossistemas, em especial, os aquáticos. Possui ação acumulativa em animais aquáticos, podendo entrar na cadeia alimentar aquática através do consumo direto de água ou biota e através de vias não alimentares, tais como a absorção através dos epitélios (RUANGSOMBOONA & WONGRATB, 2006), sendo altamente tóxico (MANSOUR & SIDKY, 2002). O elemento químico chumbo gera efeitos igualmente cumulativos e, conseqüentemente, severos nos ecossistemas, nos quais está presente em concentrações acima do normal, em especial, à medida que são incorporadas fontes antrópicas desse metal. O cromo é um elemento essencial nos organismos vivos, de modo geral, em sua forma de Cr^{3+} , constituindo-se em um nutriente necessário para o metabolismo de hidratos de carbono (KUYKENDALL *et al.*, 2006). No entanto, tal elemento químico pode ser encontrado, na natureza, em diversos estados de oxidação, porém na forma de Cr^{6+} possui ação cancerígena (WHO, 1990; DUFFUS, 2002). O mercúrio é um metal de transição, com elevado número atômico, massa atômica, e densidade, além de ser

líquido em condições ambiente de pressão e temperatura. O mesmo era utilizado no Brasil em grande escala, nos processos de mineração rudimentar nos quais eram realizados os procedimentos para separação entre o ouro e outros materiais sólidos, a partir da adição do mercúrio metálico à amostra (LACERDA, 1995).

Segundo DUFFUS (2002), o termo "metal pesado" é utilizado referindo-se a um elemento metálico, com número atômico consideravelmente alto, que possa causar danos ao meio ambiente ou ao organismo humano. No entanto, alguns deles, em baixas concentrações, possuem importância em funções biológicas, então, não são absolutamente maléficos, sendo o excesso deles responsável por afetar, negativamente, as atividades inerentes ao ecossistema ou influir de modo prejudicial no organismo humano. Ainda, compõe a lista de elementos elencados, na categoria e citados anteriormente, o elemento químico manganês, que apesar de ser essencial aos organismos vivos, em quantidades excessivas pode causar problemas respiratórios e efeitos neurotóxicos (LUCCHINI *et al.*, 2007; BORGES *et al.*, 2011). São contaminantes, adicionalmente passíveis de monitoramento, elementos como, por exemplo: arsênio, alumínio, titânio e cobre ou mesmo o ferro, cálcio, potássio e níquel que, em baixas concentrações, são essenciais nos organismos vivos (PALERMO *et al.*, 2015), mas, em concentrações elevadas, causam danos.

A identificação e quantificação de contaminantes em amostras de índole orgânica são realizadas, de modo maioritário, por técnicas tradicionais, como: Cromatografia Gasosa, com detectores UV-vis (GC) ou espectrômetros de massa (GC-MS); e a Cromatografia Líquida, com detectores UV-vis (HPLC) ou espectrômetros de massa (HPLC-MS), dentre outras variantes, ou por métodos espectrométricos como: a Ressonância Magnética Nuclear (NMR); a Espectrometria Eletrônica Molecular UV-visível; a Espectroscopia Molecular Raman; a Espectroscopia Molecular no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR). Entretanto, a caracterização de contaminantes metálicos, normalmente, requer técnicas como aquelas que se baseiam na interação da radiação eletromagnética com a matéria, tais como os métodos de Absorção atômica (FAAS, GFAAS), de Emissão Atômica (ICP-OES, ICP-MS), e de Fluorescência de raios X (ED-XRF, WD-XRF, TXRF, μ XRF), dentre outros. Os métodos de tratamento de efluentes domésticos, industriais, entre outros, podem ser realizados por processos convencionais que envolvem processos químicos,

bioquímicos, físico-químicos, tais como: troca de íons, osmose inversa, eletrólise, precipitação e adsorção, a fim de remover metais de efluentes industriais, ou compostos orgânicos, como corantes de águas poluídas ou efluentes industriais.

2.1.1 A questão ambiental na região oeste do Paraná

O Paraná é um estado que possui intensa atividade agrícola e cidades em franco desenvolvimento. Desse modo torna-se importante a avaliação dos parâmetros ambientais, em especial em ambientes aquáticos, a fim de que tais atividades não influam negativamente sobre o meio ambiente. Os estudos avaliativos conduzidos objetivando-se a preservação dos mananciais aquáticos estão diretamente ligados às bacias hidrográficas, ou seja, a área correspondente a drenagem de todos os córregos, nascentes e rios que convergem para um rio principal da região (PARANÁ, 2010). O Paraná possui 16 bacias hidrográficas: Bacia Litorânea, Bacia do Ribeira, Bacia do Cinzas, Bacia do Iguaçu, Bacias do Paraná I, II e III, Bacia do Tibagi, Bacia do Ivaí, Bacia do Piquiri, Bacia do Pirapó, Bacia do Itararé, Bacias do Paranapanema I, II, III e IV. Todas são subdivididas em 12 Unidades Hidrográficas: Litorânea, Alto Iguaçu/Ribeira, Médio Iguaçu, Baixo Iguaçu, Itararé/Cinzas/Paranapanema I e II, Alto Tibagi, Baixo Tibagi, Pirapó/Paranapanema III e IV, Alto Ivaí, Baixo Ivaí/Paraná I, Piquiri/Paraná II, Paraná III (PARANÁ, 2010) conforme Figura 2.1.

Mais especificamente, a região oeste do estado do Paraná possui grande riqueza de recursos hídricos, e importantes construções, diretamente ligadas a estes, como por exemplo: a Itaipu Binacional, maior hidrelétrica do Brasil em capacidade de produção de energia, com 14.000 MW de potência instalada (ITAIPU, 2015); os parques ecológicos; e os centros turísticos, como as Caratas do Iguaçu. A região abriga ainda grande parte do Aquífero Guarani, como grande fonte de água doce para o abastecimento de cidades, além do rio Paraná, maior do estado e um dos maiores rios do Brasil. Existem, nesse trecho, diversos rios menores, utilizados na captação de água pela empresa de saneamento e abastecimento do estado, a SANEPAR. Dessa forma, a maioria das pessoas da região consome água captada dos rios, com qualidade de água adequada para o

consumo humano. Avaliar a contaminação e suas possíveis fontes, responsáveis pelos danos ambientais, é, portanto, uma questão de saúde pública.



Figura 2.1 – Bacias hidrográficas e principais cidades do estado do Paraná.
Fonte: PARANÁ, 2010.

O aumento populacional das cidades ocasiona vários problemas tanto na escala social bem como ao meio ambiente circundante, o que pode ser perceptível em regiões de crescimento rápido como o oeste do Paraná, e consequentemente a implantação de grandes indústrias na localidade perceptível em especial em cidades como Toledo, Foz do Iguaçu e Cascavel. Relacionando-se o crescimento industrial e das cidades com a problemática ambiental, pode-se afirmar que uma possível falta de planejamento municipal em relação à ocupação de áreas próximas de bacias hidrográficas gera impacto ao meio ambiente. O controle ineficiente de resíduos comumente lançados nos rios torna-se, adicionalmente, uma questão passível de investigação analítica, sendo a bacia cascavelense - região de intenso crescimento nos últimos anos - um caso interessante para aplicação de estudo de cunho avaliativo. A degradação da qualidade da água de rios, associando-se com a urbanização, bem como as atividades agrícola e industrial, é um grave problema ambiental, e o monitoramento da área possibilita uma visão de eventuais problemas ambientais no local (OBREGÓN *et al.*, 2014).

A cidade de Cascavel obteve sua emancipação política em 1952, tornando-se um município importante no oeste do Paraná, sendo relevante ressaltar o crescimento intenso a partir do ciclo das madeiras e empresas colonizadoras (CASCAVEL, 1995). Durante o desenvolvimento das atividades citadas, ocorreu um rápido crescimento das atividades urbanas na cidade, tais como a ampliação do comércio e o estabelecimento de indústrias e hoje o município faz jus ao título de “capital do oeste do Paraná” devido a sua influência na região e a importância das atividades desenvolvidas ao longo de mais de 60 anos de crescimento financeiro e populacional. Cascavel situa-se no terceiro planalto do estado, na região oeste paranaense, com uma altitude média de 785 metros e uma área de 2.100 km². Atualmente a cidade possui mais de 300 mil habitantes o que a consolida como um polo econômico regional no oeste do estado paranaense e epicentro do Mercosul (CASCAVEL, 2015).

A Tabela 2.1 apresenta os dados atuais relativos à cidade de Cascavel, em concordância com o instituto brasileiro de geografia e estatística (IBGE) sendo os dados atualizados em 2014:

Tabela 2.1 - Dados relativos ao município de Cascavel

| | |
|---|----------------------------|
| População estimada 2014 ¹ | 309.259 habitantes |
| Área da unidade territorial (km ²) ¹ | 2.100,831 |
| Clima predominante ² | Mesotérmico e Superúmido |
| Localização geográfica ² | 24°58' S/53°26' W |
| Bacias hidrográficas ³ | Paraná 3, Iguaçu e Piquiri |

(1) Fonte: (IBGE, 2014); (2) Fonte: (CASCAVEL, 1995); (3) Fonte: (PARANÁ, 2010)

O município de Cascavel localiza-se entre três grandes bacias hidrográficas, conforme Figura 2.1 por isso, um ponto de interesse estratégico no intuito de monitoramento e preservação da qualidade de água dos rios na região oeste Paraná. Como a cidade está ligada às três bacias supracitadas, as atividades urbanas e agrícolas na região possuem grande alcance territorial e conseqüentemente o efeito dos danos eventuais ao meio ambiente excede as barreiras municipais. Na literatura (CASCAVEL, 1995), foram apresentadas propostas no sentido de tratar os problemas ambientais já notados em 1995 nos rios da região. As propostas apresentadas conforme referência citada anteriormente, conseguiram apoio de diversos órgãos do estado do Paraná

(Prefeitura de Cascavel, SANEPAR, IAPAR, etc.), evidenciando a necessidade de recuperação e principalmente do monitoramento, sendo conhecidos de longa data os problemas na preservação dos ecossistemas bem como dos recursos hídricos na localidade.

Na cidade de Cascavel existem diversos córregos que atravessam tanto a área urbana quanto rural do município. Estes, possuem pequeno volume de água e geralmente recebem grande quantidade de contaminantes oriundos das povoações circundantes, perdem a área de cobertura ciliar ocasionando intensos processos de erosão durante o período chuvoso. O córrego Bezerra, por exemplo, possui sua nascente na área urbana e percorre vários quilômetros pela área rural do município, sendo um dos afluentes do rio das Anates que por sua vez tem sua foz no rio São Francisco (OBREGÓN *et al.*, 2014), pertencente a bacia do Paraná III. Aquele atravessa áreas de atividade agrícola, industrial e recebe despejos da SANEPAR - empresa responsável pelo tratamento da água e esgoto no município. A necessidade gerada de verificarem-se os parâmetros físico-químicos estende-se aos sedimentos, pois esse tipo de material é capaz de mostrar o aumento da carga de resíduos sólidos, e/ou da concentração tanto de metais pesados quanto de outros elementos ao longo do tempo.

2.2 Determinações Elementares

2.2.1 Técnicas espectrométricas atômicas

Em espectroscopia atômica, os métodos de análise, envolvendo os parâmetros passíveis de avaliação, baseiam-se no estudo da interação da radiação com a matéria, cujo efeito é uma evidente perturbação da estrutura atômica quantizada, ocorrendo, portanto, transições eletrônicas entre estados atômicos excitados e o estado atômico fundamental, ou vice-versa. Considerando-se os átomos constituintes da matéria ao interagirem com a radiação eletromagnética, são induzidas transições entre seus estados eletrônicos; ou seja, passando a um estado energético mais elevado, ocorrendo o processo de absorção de radiação eletromagnética. Quando há o processo espontâneo inverso, com o retorno ao seu

estado fundamental, os átomos emitem energia característica, o que implica na ocorrência do processo de emissão de radiação eletromagnética.

Tanto no processo de absorção como de emissão de radiação eletromagnética, pode-se ter comprimentos de ondas na região espectral dos raios X até a região de luz ultravioleta ou visível, dependendo de quanto de energia houve envolvida no processo de absorção ou os estados eletrônicos perturbados pela absorção de radiação. Adicionalmente, os átomos, ao terem estruturas eletrônicas quantizadas, podem apresentar a absorção como a emissão de radiação de forma quântica, ou de fótons, com energia bem definida, chamada de energia característica de absorção ou de emissão. Este caráter único, na energia de absorção ou de emissão, é a impressão digital do átomo e torna-se uma ferramenta muito útil na identificação do átomo, perturbado ou retornando ao seu estado fundamental, respectivamente, pois os estados energéticos dos átomos dependem, essencialmente, do número atômico. Além do mais, a quantidade de fótons emitidos ou absorvidos é proporcional à concentração de átomos na amostra, seja sólida, líquida ou gasosa, que evidenciaram os processos de emissão ou de absorção de radiação. Desse modo, a emissão ou absorção, em que se baseiam os métodos espectroscópicos são 'impressões digitais' dos átomos em questão. Baseando-se em uma resposta esperada, causa-se uma perturbação na amostra, permitindo a identificação e quantificação das diversas estruturas atômicas, caracterizadas pelo número atômico, via a detecção de radiação característica, conforme explicitado na Figura 2.2.

As técnicas espectrométricas relacionadas a determinações elementares destacam-se pela necessidade de uma quantidade mínima de energia incidida no átomo para geração da resposta esperada. Essa quantidade de energia necessária normalmente aumenta conforme o aumento do número atômico elementar, em métodos envolvendo absorção ou emissão atômica. Geralmente, existe uma ordem crescente nos limites de detecção dos elementos conforme o aumento do número atômico. Tais técnicas espectrométricas possuem variantes conforme a especificidade da amostra ou tipo de resposta desejada. Desse modo, o resultado da análise é obtido utilizando-se uma perturbação induzida no sistema atômico sob análise. São exemplos de procedimentos espectrométricos particularmente importantes em análises elementares: Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (*Flame Atomic Absorption Spectrometry* ou FAAS); Espectrometria de

Absorção Atômica com Forno de Grafite (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry* ou GFAAS); Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (*Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* ou ICP-OES); Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente acoplado (*Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry* ou ICP-MS) e finalmente, os métodos de fluorescência de raios X por dispersão de energia (*Energy-Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry* ou ED-XRF) ou por dispersão de comprimento de onda (*Wavelength-Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry* ou WD-XRF), sendo estes últimos citados, métodos alternativos em relação à química clássica, alcançando limites de detecção baixos (da ordem de mg/kg a $\mu\text{g/kg}$) em pequenos intervalos de tempo (BORGESSE *et al.*, 2011; ALOV, 2011; TAKAHARA *et al.*, 2010).

| Tipo de alteração quântica: | Alteração de <i>spin</i> | | Alteração da orientação | Alteração da configuração | Alteração da distribuição eletrônica | | Alteração da configuração nuclear |
|-----------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------------------|--|--|
| | | | | | | | |
| | 10^{-2} | 1 | 100 | 10^4 | 10^6 | Número de onda, cm^{-1} 10^8 | |
| | 10 m | 100 cm | 1 cm | 100 μm | 1.000 nm | 10 nm | Comprimento de onda 100 pm |
| | 3×10^6 | 3×10^8 | 3×10^{10} | 3×10^{12} | 3×10^{14} | 3×10^{16} | Frequência, Hz 3×10^{18} |
| | 10^{-3} | 10^{-1} | 10 | 10^3 | 10^5 | 10^7 | Energia, J mol^{-1} 10^9 |
| Tipo de espectroscopia: | RMN | RSE | Microonda | Infravermelho | Visível e ultravioleta | Raios X | Raios γ |

Figura 2.2 – Tipo de alteração quântica versus resposta espectroscópica (SKOOG *et al.*, 2005).

2.2.2 Técnicas espectrométricas atômicas por processo de absorção

Na técnica instrumental FAAS, a amostra é previamente digerida em ácido, passando, ainda, por diluição preliminar. Ao ser sugada até a câmara de nebulização, com descarte das partículas maiores, e carregada as partículas menores pela mistura de gases (acetileno e ar) até o queimador laminar, a nuvem de partículas é submetida a elevadas temperaturas, da ordem de 3000 K, pela qual a amostra é atomizada e, preferencialmente, todos os átomos estão no estado

fundamental. Nessa condição atômica, um feixe de luz (visível ou UV), com uma série de comprimentos de onda característicos do elemento de interesse, fornecida por uma lâmpada de cátodo oco, atravessa o comprimento longitudinal da nuvem atomizada ou do queimador, ocorrendo o processo físico de absorção da radiação, com a perda de intensidade do feixe de luz correspondente à concentração de átomos na nuvem atomizada. A luz, atenuada na sua intensidade, é processada opticamente para a escolha do comprimento de onda de interesse e a coleta da intensidade relativa ao feixe de luz de referência, sem atenuação, chamada de transmitância ou, de forma equivalente, Absorbância. A linearidade da resposta do instrumental, entre a concentração do analito e o valor da Absorbância, depende, basicamente, do grau de transparência da nuvem atomizada sendo que a elevadas concentrações criam-se problemas de não-linearidade ou afastamento da Lei de Beer (HOLLER *et al.*, 2009), enquanto que, a baixas concentrações cria-se problemas instrumentais na piora da discriminação entre o sinal próprio da amostra e o sinal oriundo da própria chama, reduzindo seu alcance de medidas confiáveis ou limite de detecção. Os limites de detecção pela técnica AAS chegam à ordem de 0,1 ppm (HOLLER *et al.*, 2009).

Em procedimentos envolvendo GFAAS, uma micro gota de amostra é depositada numa plataforma dentro de um micro forno de grafite na qual é submetida a aquecimento térmico (3000 K), de modo a ter uma nuvem de átomos, no estado fundamental, que será exposta à passagem de um feixe de luz, bem característico, tal como ocorre na técnica AAS; porém não tendo os problemas instrumentais da AAS, tais como o grau de transparência da chama e o sinal óptico de fundo ou ruído da mesma, abaixando, comparativamente, os limites de detecção quase em três ordens de grandeza (aproximadamente 0,1 ppb) aos encontrados pela técnica AAS. Contudo, ambas as técnicas processam um único elemento em cada análise, incrementando seu custo analítico em amostras multielementares, embora as análises monoelementares sejam rápidas e confiáveis.

2.2.3 Técnicas espectrométricas atômicas por processo de emissão

A técnica ICP-OES é baseada no processo físico de emissão espontânea de luz, quando uma amostra aquosa é atomizada e seus átomos são, por sua vez,

excitados ou ionizados por uma fonte térmica altamente energética, tal como ocorre num plasma obtido pela agitação de íons de átomos inertes (Argônio) por efeitos eletromagnéticos que são mantidos indutivamente por uma fonte de alimentação operando em radiofrequência. O plasma criado e mantido indutivamente alcança temperaturas da ordem de 10.000 K, que são suficientes para quebrar todos os particulados e transformá-los numa nuvem atômica ionizada. A tendência natural é o retorno espontâneo dos átomos aos seus estados fundamentais, com a emissão de luz característica, principalmente, na faixa UV. Uma amostra pode conter uma série de elementos químicos, que ao serem ionizados pela ação do plasma indutivamente acoplado geram luz com diversos comprimentos de onda característicos e suas intensidades respectivas, permitindo tanto a identificação como a quantificação elementar, de forma, quase simultânea. Toda a luz emitida é coletada e processada num espectrômetro óptico onde se faz a separação de cada linha espectral em UV, identificando o elemento químico, como também na integração do pico da linha espectral na obtenção da intensidade e, conseqüentemente, a concentração do elemento emissor.

A maioria dos elementos química da Tabela periódica pode ser identificada e quantificada pelo processo espontâneo de emissão de luz. A técnica ICP-OES é vantajosa em relação a AAS e suas variantes, uma vez que existindo um processamento de grande número de amostras, há possibilidade de determinação multielementar em cada análise, e os limites de detecção elementares são menores, na faixa de $\mu\text{g}/\text{kg}$. A desvantagem existente, relacionada à técnica de ICP-OES, está relacionada ao custo elevado, por exemplo, desde a manutenção do equipamento, com consumíveis, até a elevada taxa de consumo de argônio (16 L/min) para o arraste da amostra, como refrigerante da tocha do plasma, e como combustível do plasma indutivamente acoplado. Como uma variante alternativa àquela técnica, há a ICP-MS no qual o espectrômetro óptico é substituído por um espectrômetro de massa, incrementando em muito a sensibilidade elementar e limites de detecção em várias ordens de grandeza. Entretanto, este último equipamento possui custo elevado em relação a todos os demais citados. É importante notar que boa parte dos métodos de ICP são caros para utilização em análises rotineiras.

2.2.4 Técnicas espectrométricas atômicas por processo de Fluorescência

As técnicas envolvendo espectroscopia de raios X possuem como vantagem, em relação aos procedimentos descritos anteriormente, a determinação elementar via processos de absorção e emissão de radiação característica, de comprimento de onda na região de raios X, bem mais energética da ordem 1000 vezes mais energética do que os raios UV, sem a necessidade de abertura de matrizes orgânicas ou de baixa densidade, visto o enorme poder de penetração dos raios X dentro da matéria sem atenuação. Os comprimentos de onda dos raios X situam-se na faixa de nanômetros. Consequentemente, a radiação emitida é altamente energética (HOLLER *et al.*, 2009). Esse tipo de radiação eletromagnética foi descoberta em 1895 por Wilhelm C. Röntgen, sendo produzida nos comprimentos de onda chamados 'curtos' normalmente situados na faixa entre $0,5 < \lambda < 25$ Angströms (Å) (CULLITY & STOCK, 1956; PARRATT, 1954).

A descoberta de Röntgen foi significativa devido às potencialidades dos raios X, tanto na teoria quanto na prática da ciência, tecnologia e medicina. Existe a possibilidade da aplicação desses procedimentos desenvolvidos em radiografias, biópsias, análises de interferentes em amostras de fármacos, amostras ambientais, dentre outras aplicações (PASHKOVA *et al.*, 2015), em um intervalo curto de tempo, após sua descoberta. Nos últimos anos, houve um intenso desenvolvimento de procedimentos espectroscópicos enfatizando a importância de estudos envolvendo raios X, focando na aplicabilidade destes, o que gerou mudanças positivas tanto na sensibilidade quanto na qualidade da técnica (DE LA CALLE *et al.*, 2013a).

Com radiação, mais energética, pode-se perturbar o átomo nos seus estados eletrônicos mais energéticos, bem próximos do núcleo atômico, emitindo, por um processo de fluorescência, radiação característica de raios X oriunda das transições eletrônicas. Dependendo da forma de incidência da radiação, em baixo ou elevado ângulo, e do sistema de detecção escolhido, na discriminação da energia ou comprimento de onda da radiação emitida, pode-se ter técnicas de fluorescência de raios X do tipo ED-XRF, WD-XRF ou TXRF, como ferramentas analíticas de elevada sensibilidade elementar (elementos de baixo ou elevado número atômico) e bons limites de detecção (da ordem de ppm ou ppb). Não há

necessidade de utilização gases para ter uma fonte térmica que faça a excitação/ionização dos átomos. Os limites de detecção são relativamente baixos para boa parte dos elementos químicos (até a ordem de $\mu\text{g}/\text{kg}$), e não há necessidade de digestão da amostra, tornando o procedimento mais rápido (SHAW et al., 2012; KLOCKENKÄMPER & VON BOHLEN, 2015) e menores os custos de análise pelos procedimentos usuais de raios X, em relação à ICP-OES ou ICP-MS.

Na espectroscopia de raios X, o esquadramento da estrutura da matéria, tanto na composição como distribuição de componentes a escala atômica, baseiam-se na emissão, absorção, espalhamento, fluorescência ou difração de raios X. Esses fenômenos físicos, oriundos da interação dos raios X com estrutura dos átomos, trazem indiretamente à tona informações do elemento químico envolvido. Os métodos espectroscópicos de raios X são utilizados, atualmente, tanto na determinação quanto na quantificação elementar de praticamente todos os elementos químicos da tabela periódica, com exceção daqueles com número atômico menor que o sódio. Com equipamentos especiais, no entanto, é possível determinação/quantificação de elementos com número atômico na faixa de 5 a 10, bem como identificação da estrutura dos compostos presentes em uma amostra (HOLLER *et al.*, 2009).

2.3 Espectroscopia de Raios X

Existem efeitos envolvendo a interação da radiação eletromagnética com a matéria que devem ser considerados em espectroscopia de raios X: o efeito fotoelétrico, que normalmente gerador da resposta desejada (ALOV, 2011); os espalhamentos Compton (STRELI, 1997) e Rayleigh, que representam os desvios indesejados aumentando o ruído instrumental (VON BOHLEN, 2009); e o efeito Auger, significativo para elementos com baixo número atômico, sendo este último o princípio para Espectroscopia Auger (AES), Mas que em análises por raios X produz efeito competitivo com o fotoelétrico, prejudicando a qualidade da resposta obtida (HOEFLER *et al.*, 2006).

2.3.1 Efeito fotoelétrico

O efeito fotoelétrico ocorre quando a energia dos fótons do feixe incidente é totalmente absorvida por um elétron de camada interna atômica. O elétron por sua vez, é expulso do átomo (fotoelétron) com uma determinada energia cinética, deixando uma vacância em sua camada eletrônica (TSUJI *et al.*, 2011). Os elétrons das órbitas mais externas decaem, ocupando esta vacância deixando pelo fotoelétron, implicando em emissão de fótons de fluorescência: Princípio básico da espectrometria XRF (KLOCKENKÄMPER & VON BOHLEN, 2015; OLIVEIRA, 2000). A Figura 2.3 ilustra o efeito fotoelétrico:

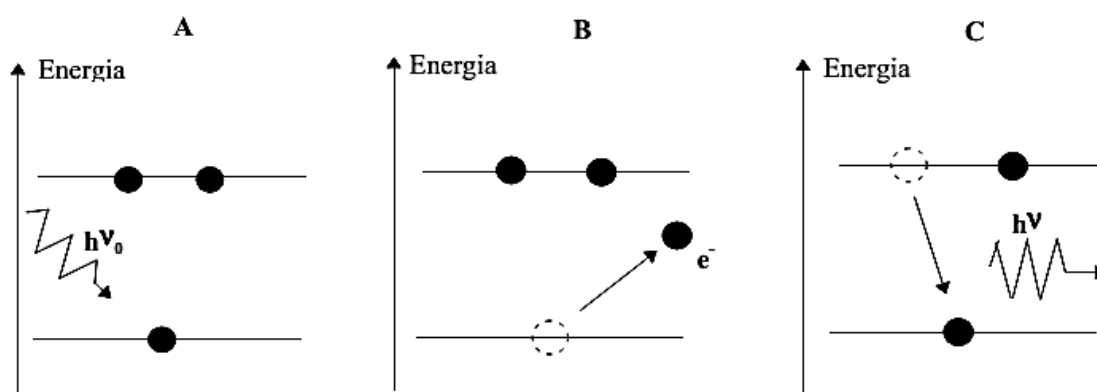


Figura 2.3 - Absorção fotoelétrica. A) Fóton incidente chega ao átomo, B) Elétron de camada interna é ejetado deixando vacância, C) Elétron de camada mais energética decai e ocupa a vacância e emitindo fluorescência (OLIVEIRA, 2000).

2.3.2 Espalhamentos Rayleigh e Compton

Os fenômenos de espalhamento são importantes em espectroscopia, sendo responsáveis pela intensidade da radiação de fundo '*background*' da medida realizada. Enquanto a absorção é a soma de três fenômenos para análises de quantidade relativamente pequena de energia incidida, o espalhamento geralmente ocorre de dois modos distintos: (1) espalhamento coerente (também conhecido como espalhamento elástico ou Rayleigh), na qual os raios X são defletidos sem perda de energia, isto é, sem aumento no comprimento de onda e (2) espalhamento incoerente (espalhamento inelástico ou Compton), na qual fótons de raios X são defletidos com perda de energia e consequente aumento no comprimento de onda e ejeção de um fotoelétron. Esses espalhamentos afetam medidas de

espectroscopia por raios X, por exemplo, aumentando a quantidade de radiação espalhada conforme aumento no número de elétrons dos átomos constituintes do material-alvo (VON BOHLEN, 2009). A Figura 2.4 ilustra tais fenômenos:

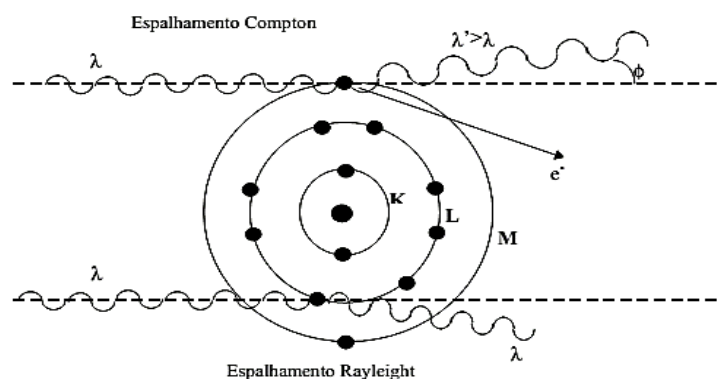


Figura 2.4 - Efeitos Compton e Rayleigh (OLIVEIRA, 2000).

2.3.3 Efeito Auger

Quando um átomo é ionizado ejetando-se um elétron de uma de suas camadas internas, pode ocorrer um rearranjo dos elétrons no dado átomo, para que a vacância deixada seja preenchida por um elétron de uma camada mais externa. Após ter ocorrido a interação da radiação eletromagnética com a matéria (via um dos processos inelásticos: fotoelétrico ou Compton), o átomo pode retornar a seu estado fundamental via dois processos: Auger e/ou Fluorescência. É caracterizada a ocorrência de efeito Auger em caso de emissão de um elétron de uma das camadas do átomo, perdendo o excesso de energia do sistema. No caso da Fluorescência, emitem-se raios X característicos via transições eletrônicas. Dessa forma, a energia tanto do fóton de raios X ou elétron Auger é marca característica do elemento emissor (MORETTI, 2013).

O efeito Auger é mais comum em elementos com baixo número atômico porque os elétrons estão fracamente 'presos' ao núcleo e os fótons característicos são mais facilmente absorvidos. Esse fato explica em parte, o fato de que elementos com baixo número atômico sejam dificilmente mensurados por TXRF bem como por outras técnicas tradicionais por raios X, uma vez que esse efeito 'concorre' com emissão fotoelétrica (HOEFLER *et al.*, 2006). A Figura 2.5 a ilustra o efeito Auger:

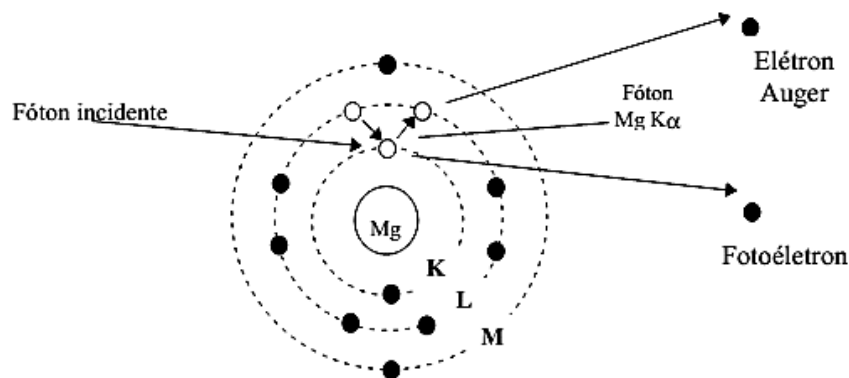


Figura 2.5 - Efeito Auger (OLIVEIRA, 2000).

2.3.4 Produção de raios X

Os raios X podem ser produzidos a partir de partículas carregadas como por exemplo elétrons, prótons, partículas alfa e/ou beta, dentre outras, que ao serem aceleradas e incididas contra um alvo (normalmente constituído de uma placa metálica) emitem radiação característica. A perda de energia dos elétrons devido ao impacto com o alvo, manifesta-se na forma de raios X. A maior parte da energia cinética dos elétrons ao atingir o alvo é convertida em calor, sendo que cerca de 1% é exposta na forma de raios X (FILHO, 1999; CUNHA E SILVA *et al.*, 2004). Desse modo, mecanismos para refrigeração devido ao aumento de temperatura no equipamento são necessários (BRUKER, 2011).

Pode-se classificar como quatro tipos principais de geração de raios X: o bombardeio de alvo metálico com feixe de elétrons de alta energia; pela exposição de uma substância a um feixe primário de raios X para gerar um feixe secundário de fluorescência; pelo uso de uma fonte radioativa cujo processo de decaimento resulta na emissão de raios X (e/ou radiação gama); e a partir de uma radiação Síncrotron (HOLLER *et al.*, 2009), sendo este último caso de utilização menos recorrente. O Brasil possui o Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), situado em Campinas, SP que disponibiliza diversas linhas de luz síncrotron para a aplicação de diversas técnicas de raios X, tais como SAX (*Small Angle X-Ray Scattering*), XANES (*X-Ray Absorption Near Edge Structure*), XRD (*X-Ray Diffraction*), XRF (*X-Ray Fluorescence*), dentre outras variantes da técnica.

A energia máxima de raios X emitida por um tubo de raios catódicos é dependente do número atômico do material alvo e da corrente que circula pelo filamento do tubo de raios X (TSUJI *et al.*, 2011). A Figura 2.6 exemplifica o processo de geração da radiação contínua chamada de *Bremstrahlung*. A energia é chamada quantizada, de característica diretamente relacionada com a estrutura atômica dos elementos químicos do material alvo. A energia emitida é fixa para um dado átomo e as linhas espectrais são dependes deste átomo emissor. A intensidade destas linhas dependem do número atômico dos elementos emissores (SHIRASAWA *et al.*, 2014):

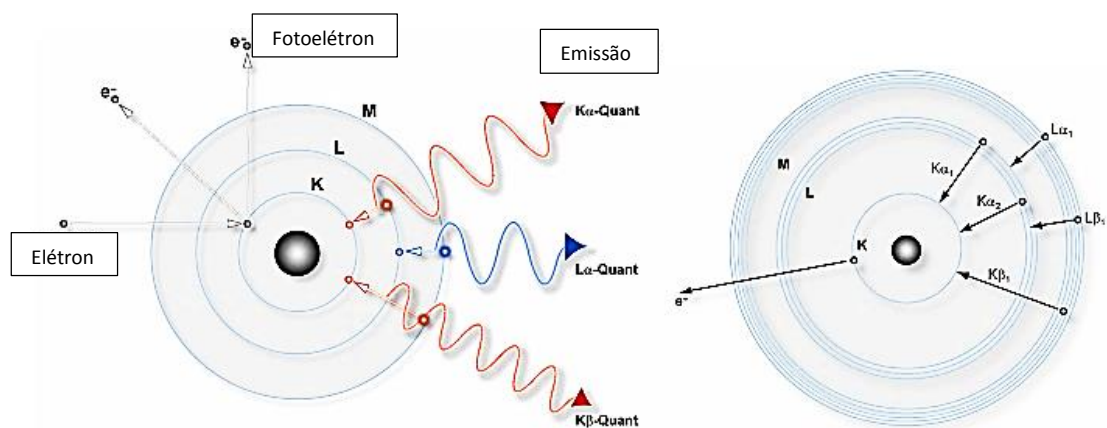


Figura 2.6 - Produção de radiação característica: representação simplificada das Subcamadas e elétrons transferidos (BEAUCHAINE, 2013).

Os raios X característicos são, portanto, fótons que são emitidos quando os elétrons atingem um alvo de metal e interagem com os elétrons que se encontram nos orbitais atômicos do metal. Para a geração de raios X, são necessárias tensões elevadas. Nos tubos de raios X, os elétrons emitidos por um filamento superaquecido, chamado de cátodo, são acelerados até colidirem com a superfície do ânodo metálico, que emite raios X por *Bremsstrahlung* e por ionização atômica. O cátodo normalmente é constituído por um filamento de tungstênio. O ânodo é constituído por um metal (por exemplo, de Rh, Cr ou de Mo), que produz fótons de raios X de comprimentos de onda 'curtos'. Os tubos de raios X normalmente possuem uma janela de berílio, pela qual ocorre o escape de radiação para o exterior. São ainda, parcialmente revestidos com um material pesado, tal como o chumbo, para absorber a radiação emitida em direções indesejadas (é importante ressaltar que essa radiação é altamente nociva ao operador ou pessoas próximas expostas a ela) (BRUKER, 2011). Dentre as técnicas envolvendo raios X, pode-se

citar como exemplo a espectroscopia de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (TXRF) que possui esquema representativo de funcionamento conforme descrição generalista acima e exposto na Figura 2.7:

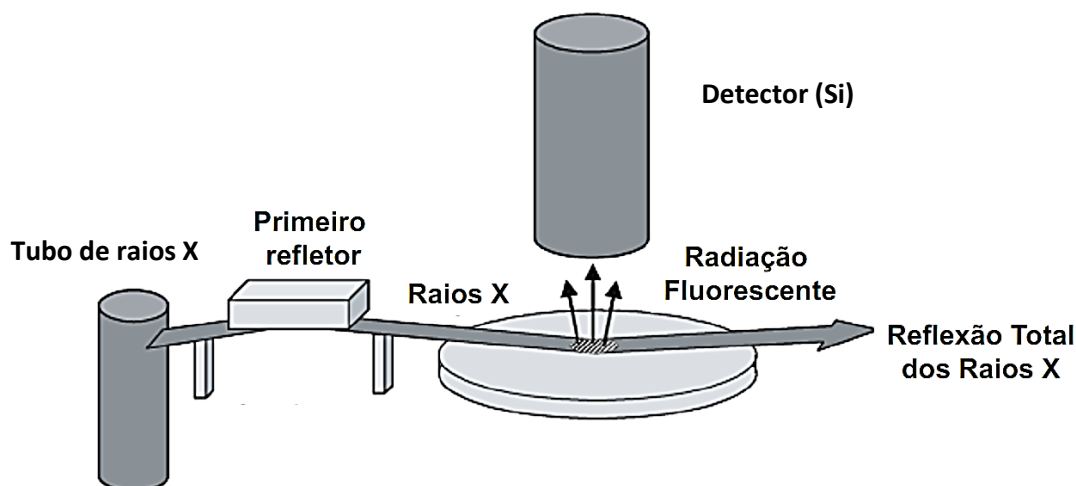


Figura 2.7 – Esquema de funcionamento do TXRF. A Radiação incide na amostra no centro do disco a baixos ângulos. Fonte: Adaptado conforme VON BOHLEN (2009).

2.3.5 Linhas espectrais advindas da fluorescência de raios X

A partir do final do século XIX, diversos cientistas se propuseram a estudar a natureza da radiação eletromagnética – princípio que seria fundamental para o desenvolvimento da espectroscopia como um todo. Nesse sentido, cientistas como Max Planck, Albert Einstein e Arthur Holly Compton contribuíram com o desenvolvimento de teorias com intuito de explicar os fenômenos oriundos de tal radiação. Em 1900, Planck apresentou o formalismo matemático que explicava a troca entre a matéria e a radiação, como ocorrendo por meio de ‘quanta’, ou seja, em pacotes discretos (restritos) de energia, descartando a ideia da física clássica que não restringia a quantidade de energia que podia ser transferida de um objeto para outro. Embora a proposta de Planck foi coerente para explicar o problema da origem da radiação do “corpo negro”, a confirmação experimental se deu a partir do efeito fotoelétrico o qual foi elegantemente explicado por Einstein em 1905, propondo que a radiação eletromagnética interage com a matéria na forma de partículas, chamados de quantas ou fótons. Posteriormente Compton fez experimentos de espalhamentos que permitiram verificar a atribuição corpuscular à luz.

A partir do exposto anteriormente, pode-se afirmar que um elétron dentro da estrutura atômica sofre transição do estado fundamental para um estado energético mais elevado se for fornecida uma quantidade mínima de energia. Ao voltar para o estado fundamental, o mesmo elétron emite radiação, também característica, dependente da natureza do material atingido pela radiação. Estabelecidas as bases da teoria quântica e estabelecida a natureza da radiação eletromagnética, tornou-se possível a representação do átomo como um modelo de camadas ou orbitais que corresponde a nuvens de probabilidade para encontrar o elétron (tratado quanticamente como onda), onde os estados eletrônicos são quantizados e cujas energias dependem do número atômico do elemento químico (ESPINOZA-QUIÑONES, 2007). A cada estado são associados números quânticos sendo eles o número quântico principal (n) 1,2, 3, ...; camadas eletrônicas: K, L, M, N ...; sub-níveis energéticos ou orbitais: s, p, d, f ...; spins: $1/2$, $-1/2$..., dentre outras definições (ATKINS & JONES, 2012). A Tabela 2.2 refere-se aos níveis e sub-níveis atômicos importantes em espectroscopia.

As linhas espectrais de raios X são dependentes do número atômico do elemento químico em questão. Quanto maior o número de elétrons, maior o número de camadas e também a quantidade de energia que deve ser aplicada para penetrar em tais camadas atômicas. Devido ao efeito blindagem - que é mais notável em elementos pesados - os elétrons de das camadas internas são mais fortemente presos pela influência nuclear sobre estes.

Quando um dado átomo é atingido por um feixe de raios X, haverá uma resposta obtida pela forma de linhas chamadas K, se possuir baixo número atômico. Com números atômicos maiores, a energia fixa incidida na amostra (particularmente recorrente em TXRF) produz linhas L ou M. Elementos químicos com números atômicos menores que 23 produzem apenas linhas da série K (HOLLER, 2009). As linhas podem ser descritas em termos de transições $K\alpha$ ou $K\beta$ devido às transições $L \rightarrow K$ e $M \rightarrow K$, respectivamente. Então, se um elétron de um nível K é ejetado, a vacância pode ser preenchida por elétrons dos níveis L, M. A quantificação utilizando linhas L é característica comum a elementos de elevado número atômico, sendo a resposta devida à transição $M \rightarrow L$, denominadas de $L\alpha$ e $L\beta$.

Tabela 2.2 – Notação espectroscópica para os níveis e sub-níveis atômicos

| Número quântico principal (n) | Camada | Número quântico orbital (L) | Número quântico spin total $J = L + s$ | Notação Siegbahn (N L J) | Notação IUPAC |
|-------------------------------|--------|-----------------------------|--|--------------------------|--------------------|
| 1 | K | 0 | 1/2 | 1 s _{1/2} | K |
| 2 | L | 0 | 1/2 | 2 s _{1/2} | L ₁ |
| | | 1 | 1/2 | 2 p _{1/2} | L ₂ |
| 3 | M | 1 | 3/2 | 2 p _{3/2} | L ₃ |
| | | | 0 | 1/2 | 3 s _{1/2} |
| | | 1 | 1/2 | 3 p _{1/2} | M ₂ |
| | | 1 | 3/2 | 3 p _{3/2} | M ₃ |
| | | 2 | 3/2 | 3 d _{3/2} | M ₄ |
| 4 | N | 2 | 5/2 | 3 d _{5/2} | M ₅ |
| | | | 0 | 1/2 | 4 s _{1/2} |
| | | 1 | 1/2 | 4 p _{1/2} | N ₂ |
| | | 1 | 3/2 | 4 p _{3/2} | N ₃ |
| | | 2 | 3/2 | 4 d _{3/2} | N ₄ |
| | | 2 | 5/2 | 4 d _{5/2} | N ₅ |
| | | 3 | 5/2 | 4 f _{3/2} | N ₆ |
| 3 | 7/2 | 4 f _{5/2} | N ₇ | | |

Fonte: ESPINOZA-QUIÑONES, 2007.

Cada transição eletrônica constitui uma transferência de energia para o elétron, resultando na emissão de um fóton de raios X. As linhas K α nos elementos leves e as L α nos mais pesados normalmente são as utilizadas na identificação e/ou quantificação dos elementos químicos numa amostra, pois são mais intensas nos espectros de raios X (ESPINOZA-QUIÑONES, 2007). As demais linhas espectrais são suprimidas em algumas análises. A Figura 2.8 ilustra um diagrama com as transições eletrônicas e as séries K e L correspondentes:

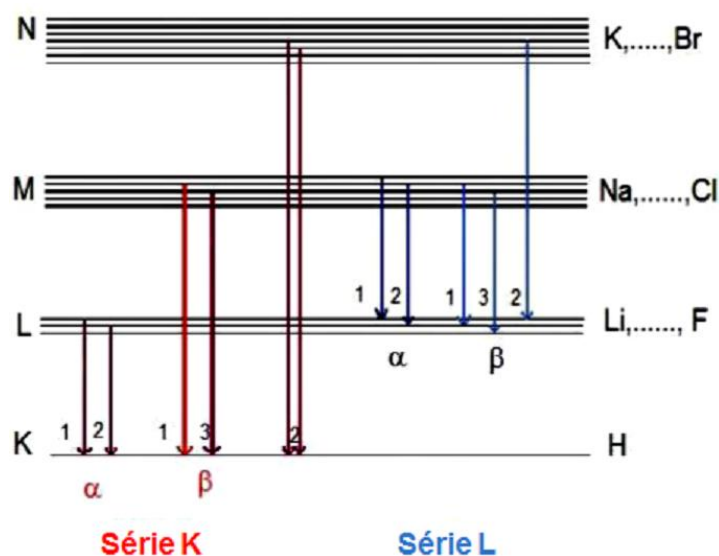


Figura 2.8 – Diagrama de transições eletrônicas. Fonte: WEBER NETO (2007).

2.3.6 Lei de Bragg

A Lei de *Bragg* é utilizada na TXRF para obter um feixe monoenergético, ou seja, suprimir todas as linhas espectrais indesejáveis e filtrar uma única energia ou comprimento de onda (WOBRAUSCHEK, 2007). Resumidamente, a lei de *Bragg* enfatiza que quando um feixe de raios X incide na superfície de um cristal a um ângulo θ , parte dele se espalha ao longo da camada de átomos dessa superfície. Desse modo, um monocristal de espaçamento interplanar conhecido d , é utilizado para dispersar o feixe policromático colimado de comprimentos de ondas que provêm da amostra, de modo que cada um destes comprimentos de onda seja difratado em ângulo característico, de acordo com a Equação 2.1 (CULLITY & STOCK, 1956):

$$n\lambda = 2d \sin\theta \quad 2.1$$

Sendo d a distância interplanar no cristal, λ o comprimento de onda, as condições para que haja interferências construtivas do feixe de ângulo θ , ou seja, os raios X para serem refletidos pelo cristal seguem a conforme descrito pela equação de *Bragg*. Para os ângulos diferentes do prescrito, ocorre interferência destrutiva e o comprimento de onda de qualquer linha específica diminuiu, conforme o número atômico do emissor aumenta (Figura 2.9).

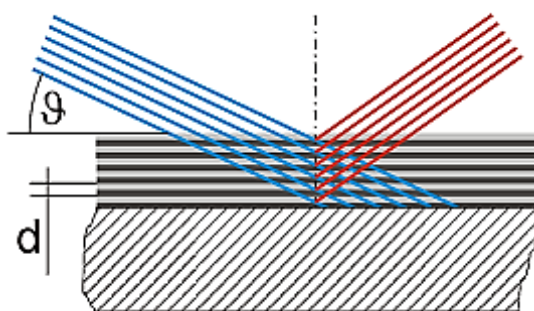


Figura 2.9 - Efeito Bragg para reflexão sobre a multicamada (BRUKER, 2011).

2.4 Fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF)

Tradicionalmente, os métodos de dispersão usados na maioria dos espectrômetros de fluorescência de raios X podem ser classificados em duas categorias: dispersão por comprimento de onda (WD-XRF) e dispersão de energia (ED-XRF).

Um espectrômetro WD-XRF emprega um monocristal difrator para separação dos comprimentos de onda característicos emitidos pela amostra, obedecendo a Lei de *Bragg*. Os espectrômetros ED-XRF por sua vez, possuem um desenho mecânico mais simples em relação os instrumentos de WD-XRF, que possuem sistema de detecção sem partes móveis e um detector de estado sólido, usualmente de silício, que atua como agente dispersor, normalmente sendo este um semicondutor (WOBRAUSCHEK, 2007; BRUKER, 2011; KUBALA-KUKUŠ *et al.*, 2013). A TXRF é uma variante da ED-XRF, possuindo como principal característica divergente o fato de ser utilizados baixos ângulos para a irradiação da amostra para que ocorra uma reflexão total do feixe.

2.4.1 Aplicações de TXRF

A espectrometria por fluorescência de raios X é um procedimento que pode ser definido como método não destrutivo da amostra, uma vez que não há a necessidade de digestão da amostra para boa parte dos casos. Este é um mecanismo utilizado para análise da composição química elementar de sólidos ou líquidos de determinada matriz. Depois do preparo analítico requerido para a amostra em questão, esta é irradiada por um feixe intenso de raios X que causa a emissão fluorescente e conseqüentemente a quantificação.

Esse método de análise possui como características principais o fato de ser uma técnica instrumental multielementar (CHERKASHINA *et al.*, 2014), com boa precisão e repetitividade (TOWETT *et al.*, 2013), baixos limites de detecção (ÁLVAREZ-VÁZQUEZ *et al.*, 2014), facilidade de operação e rapidez na geração de resultados, adequado para os tipos de amostra e aplicações variáveis, baixos efeitos de matriz ou efeito-memória, quantificação simples por meio de um padrão

interno e custos operacionais relativamente baixos em comparação a outras técnicas espectroscópicas (DE LA CALLE *et al.*, 2013a). Desse modo, fornece informações tanto qualitativas quanto quantitativas da composição das amostras.

Nos últimos anos, houve um renascimento da técnica de espectrometria de fluorescência de raios X por reflexão total, técnica apresentada em 1971 (YONEDA & HORIUCHI, 1971). Os princípios físicos e aplicações foram apresentados já nos primeiros trabalhos, envolvendo as aplicações analíticas efetivas durante os anos 80 (DE LA CALLE *et al.*, 2013a). Constitui-se de um feixe de radiação incidente em baixos ângulos sobre uma superfície refletora, de forma a se obter reflexão total (ALOV, 2011) que permite que os átomos ionizados emitam raios X característicos que podem ser detectados e posteriormente registrados num espectro XRF. Atualmente, os tubos de raios X têm sido utilizados como uma fonte para todos os tipos de aplicações. Eles possuem uma intensidade limitada, devido ao aquecimento do ânodo e existem abordagens utilizando novos materiais, que pode sanar o problema conforme descrito em MADERITSCH *et al.*, (2014).

Como foi explicitado anteriormente, utilizando-se dessa técnica espectrométrica, pode-se identificar e/ou quantificar pequenas quantidades de amostras ou volumes (μL), e concentrações na faixa de $\mu\text{g/g}$, passíveis de serem devidamente mensuradas.

Inicialmente em análises espectrométricas é necessário ter conhecimento prévio da parte analítica envolvendo amostragem, para um correto preparo da amostra a ser analisada. O procedimento analítico inicial definido como amostragem pode ser definido como o método de tratamento da parte de uma substância, material ou produto retirado de um todo, com intuito de produzir uma amostra representativa ou alíquota passível de análise (SKOOG *et al.*, 2005). A norma regulamentadora ABNT NBR ISO/IEC 17025 explicita os princípios norteadores com relação a procedimentos de amostragem, bem como outras fontes (DOQ, 2013a; DOQ, 2011; SKOOG *et al.*, 2005). Nem sempre é possível seguir de modo estrito o que recomenda a norma, ou outras referências gerais, como em análises forenses por exemplo, em que a parte de amostra obtida não pode ser representativa. Há necessidade de cuidados adicionais nas análises, tendo em vista as particularidades nesse tipo de caso (GARCÍA-REPETTO, 2015; GONZÁLEZ, 2012; 2014). No entanto, de modo geral pode-se afirmar que um

correto tratamento preliminar envolvendo a amostragem está diretamente envolvido com a confiabilidade do método e da resposta.

Várias metodologias para análise, tanto de líquidos quanto de sólidos, são sugeridas na literatura e existe um enfoque no tratamento prévio da amostra a ser analisada, nesse caso assumindo postura generalista (KLOCKENKÄMPER & VON BOHLEN, 2015; ROSCOE & BEAUCHAINE 2013; STOSNACH, 2005; FABRY *et al.*, 2011; ALOV, 2011) com sugestões de aplicações possíveis para a técnica. Dentre a gama de aplicações possíveis por TXRF, pode-se citar: análise de contaminantes em fármacos (ANTOSZ *et al.*, 2012; SHAW *et al.*, 2012), análise da qualidade e/ou contaminação em amostras líquidas (COSTA *et al.*, 2003; MARGUÍ *et al.*, 2013; BORGUESE *et al.*, 2014; MARGUÍ *et al.*, 2014; ESPINOZA-QUIÑONES *et al.*, 2015; PASHKOVA *et al.*, 2015); Arqueologia (FERNÁNDEZ-RUIZ & GARCIA-HERAS, 2008); análises biológicas/biomédicas (SZOBOSZLAI *et al.*, 2009; DE LA CALLE *et al.*, 2013b; LEITÃO *et al.*, 2014) ciência forense (DHARA *et al.*, 2010) monitoramento ambiental (OSÁN *et al.*, 2002; MOREIRA & FAZZA, 2008; TOWETT *et al.*, 2013) dentre outras aplicações possíveis. A Figura 2.10 ilustra os elementos possíveis de serem mensurados por TXRF. Nota-se uma ampla faixa de elementos químicos quantificáveis, justificando o elevado número de aplicações possíveis.

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| H | | | | | | | | | | | | | | | | | He |
| Li | Be | | | | | | | | | | | B | C | N | O | F | Ne |
| Na | Mg | | | | | | | | | | | Al | Si | P | S | Cl | Ar |
| K | Ca | Sc | Ti | V | Cr | Mn | Fe | Co | Ni | Cu | Zn | Ga | Ge | As | Se | Br | Kr |
| Rb | Sr | Y | Zr | Nb | Mo | Tc | Ru | Rh | Pd | Ag | Cd | In | Sn | Sb | Te | I | Xe |
| Cs | Ba | L | Hf | Ta | W | Re | Os | Ir | Pt | Au | Hg | Tl | Pb | Bi | Po | At | Rn |
| Fr | Ra | A | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | L | La | Ce | Pr | Nd | Pm | Sm | Eu | Gd | Tb | Dy | Ho | Er | Tm | Yb | Lu |
| | | A | Ac | Th | Pa | U | Np | Pu | Am | Cm | Ek | Cf | Es | Fm | Md | No | Lr |

| |
|-----------------------------------|
| Impossível a quantificação |
| Difícil a quantificação |
| Quantificação utilizando linhas K |
| Quantificação utilizando linhas L |

Figura 2.10 – Elementos quantificados por TXRF com tubo de Mo.
Fonte: Adaptado conforme ROSCOE & BEAUCHAINE (2013).

2.4.2 Aplicações a amostras líquidas

Como aplicação comum com TXRF pode-se citar a análise de amostras líquidas, *in natura* ou diluídas. Na literatura existem vários trabalhos enfocando na questão da qualidade da água consumida e sendo essa técnica capaz de analisar possíveis contaminações por metais pesados em concentrações ínfimas, há aplicabilidade, relatada em vários casos na literatura (ESPINOZA-QUIÑONES *et al.* 2015; HAMPAL *et al.*, 2014; MARGUÍ *et al.*, 2014; MOREIRA & FAZZA, 2008), com boa precisão e comparável, segundo BORGUESE *et al.* (2014), às técnicas multielementares ICP-OES ou mesmo ICP-MS, amplamente utilizadas na determinação de poluentes e com limite de detecção para alguns metais bem acima da faixa das técnicas de FAAS ou AES.

Apesar da limitação da técnica em mensurar elementos de baixo número atômico (POLGÁRI *et al.*, 2011), para uma vasta gama de elementos existe alta reprodutibilidade (CATALDO, 2012) e todas as técnicas espectrométricas citadas possuem limitações (BORGUESE *et al.*, 2011). Como não é necessária, para boa parte dos casos, a diluição e/ou digestão da amostra, pode-se evitar erros dessa natureza oriundos desses procedimentos (KLOCKENKÄMPER & VON BOHLEN, 2015). Existem ainda análises similares, realizadas em vários países diferentes com o intuito de validar metodologias para TXRF (PASHKOVA *et al.*, 2015) e demonstrar a boa concordância entre os valores obtidos em laboratórios (testes Inter laboratoriais) diferentes, conforme exemplificado em BORGUESE *et al.* (2014) enfatizando a exatidão do método.

A técnica TXRF pode adicionalmente ser utilizada na determinação de concentração elementar de amostras de sangue conforme descrito pelos autores STOSNACH & MAGES (2009) e LI *et al.*, (2015), para avaliação nutricional de um indivíduo. Segundo experimentos conduzidos por pesquisadores como em TELGMANN *et al.*, (2011) e SZOBOSZLAI *et al.*, (2009) pode-se adicionalmente analisar amostras de urina, tendo-se boa precisão nos resultados. Em ROSCOE & BEAUCHAINE (2013) ainda é discutida a aplicabilidade para análises de leite materno, amostras com material 'pastoso', de origem biomédica e/ou farmacêutica, de cunho ambiental, etc.

Em muitos casos são apresentados exemplos de metodologias aplicadas à análise de água e efluentes, com o intuito de monitoramento. COSTA *et al.*, (2003) desenvolveram estudo objetivando-se enfatizar um exemplo prático de utilização da TXRF com tais finalidades. O autor e seus colaboradores avaliaram a qualidade de diversas marcas de água mineral, considerando como parâmetro as concentrações elementares de silício, enxofre, potássio, cálcio, titânio, cromo, manganês, níquel, cobre, zinco, germânio, rubídio, estrôncio, bário e chumbo, comparando-os aos valores obtidos com os referências contidos na legislação brasileira. MARGUÍ *et al.*, (2010a) monitoraram a concentração de Hg em amostras de águas residuais e desenvolveram uma metodologia para análise deste contaminante metálico em amostras similares. BAHADIR *et al.*, (2015) desenvolveram uma metodologia baseada na combinação de TXRF com extração dispersiva em fase micro sólida para determinação de Cr⁶⁺ em amostras de água para consumo humano, e ESPINOZA-QUIÑONES *et al.*, (2015) utilizaram a técnica com intuito de avaliação dos níveis de concentração de elementos-traços em água subterrânea, conjuntamente com a técnica ICP-OES e comparou-se os valores obtidos com a legislação vigente.

2.4.3 Aplicações a amostras sólidas

Frequentemente, a espectrometria de fluorescência de raios X por reflexão total é requerida para análise de amostras sólidas pelo fato de que não é necessária a digestão da amostra (OSÁN *et al.*, 2007, ALOV, 2011), nem grande massa desta, da ordem de 20-50 mg. Portanto, essa técnica mostra-se vantajosa mesmo em comparação com outras formas tradicionais de análise que envolve modificações na matriz, e conseqüentemente erros adicionais (MA *et al.*, 2014).

Aplicações da técnica envolvendo amostras sólidas são variadas, e sua utilização ocorre em campos diversos. Na parte biomédica, existem numerosos estudos envolvendo análises de tecidos cancerosos (LEITÃO *et al.*, 2014; LANKOSZ *et al.*, 2014; MAGALHÃES *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2007) possibilitando diagnósticos rápidos e precisos em biópsias, ao demonstrar alteração nos níveis considerados normais dos metais constituintes da amostra analisada. Existe aplicabilidade de TXRF a estudos na área forense (DHARA *et al.*,

2010), bem como a possibilidade de análise de amostras dos músculos e ossos humanos para obtenção de dados, com considerável rapidez na obtenção dos resultados, além de acurácia e precisão requeridas. Ainda na parte biológica, é comum a utilização na análise de metais em plantas (DETCHEVA *et al.*, 2015; DE LA CALLE *et al.*, 2012; MARGUÍ *et al.*, 2009; SZOBOSZLAI *et al.*, 2009) sendo recomendado o uso de metodologias desse gênero para análise dos constituintes em vegetais (DE LA CALLE *et al.*, 2013c). Adicionalmente uma vasta descrição de metodologias de TXRF aplicáveis a vários tipos de plantas são possíveis (MARCÓ & HERNÁNDEZ-CARABALLO, 2004).

Na indústria farmacêutica, têm-se como exemplo, a aplicação da técnica na determinação de impurezas em amostras, como por exemplo em SHAW *et al.* (2012) que os autores avaliaram os níveis de contaminantes (elementos-traço metálicos) em drogas farmacêuticas e comparou-se os resultados obtidos com àqueles reproduzidos por ICP-MS. ANTOSZ *et al.* (2012) com amostras de composição similar, realizaram medidas espectrométricas com intuito de análise e comparação entre os resultados obtidos por TXRF com relação à ICP-MS e adicionalmente discutiram a aplicabilidade de outras técnicas espectrométricas para o caso estudado. Ainda é possível encontrar na literatura outros autores (HENDERSON & BEAUCHAINE, 2013; BORGESSE, *et al.*, 2010; WAGNER *et al.*, 1997) relatando a eficácia do processo de fluorescência total de raios X na identificação de metais em ingredientes para produção de drogas no setor farmacêutico.

Análises envolvendo monitoramento ambiental são comumente realizadas por TXRF, devido à praticidade do método aplicação em relação às técnicas espectrométricas usuais, como rapidez e ausência de perdas decorrente de digestão, comuns na realização do preparo de amostras para AAS e ICP-OES por exemplo. OSÁN *et al.*, 2002; 2004; 2007 por exemplo, utilizaram a técnica de TXRF em seus estudos envolvendo a avaliação de concentrações elementares de metais pesados e caracterização do grau de contaminação do ambiente em questão (rio Tisza, no continente europeu); da influência da ação antrópica na poluição do rio Tisza; e comparação entre os níveis de poluição de alguns outros rios da Hungria em comparação com o Tisza. ÁLVAREZ-VÁZQUEZ *et al.*, (2014), ao estudarem amostras de sedimentos, conseguiram a recuperação de 10 elementos, validação dos resultados experimentais obtidos e avaliação da influência humana na

degradação do ambiente estudado. Utilizou-se métodos estatísticos multivariados como análise por componentes principais para tratamento dos dados, procedimento que mostrou-se eficiente ao ser aplicado à determinação de elementos químicos em sedimentos, rochas e solos. Estudos envolvendo a técnica de TXRF com o intuito de avaliação ambiental de amostras sólidas são recorrentes na literatura (PAULETTE *et al.*, 2015; CHERKASHINA *et al.*, 2014; TOWETT *et al.*, 2013; DE LA CALLE *et al.*, 2013; ESPINOZA-QUIÑONES *et al.*, 2011; MOREIRA & FAZZA, 2008; DE VIVES *et al.*, 2007), enfatizando adicionalmente a aplicabilidade e eficácia da técnica.

2.5 Tratamento Estatístico de dados experimentais

O desenvolvimento de metodologias confiáveis para análise de sólidos exige a utilização de padrões certificados com intuito de verificação da reprodutibilidade do método empregado. Um fato importante a mencionar é que o termo “certificação” utilizado em “materiais de referência certificados” não deve ser confundido com certificação de produto ou certificação de sistemas de gestão, uma vez que ambos os termos são utilizados durante esta descrição do estudo realizado.

A confiabilidade nas medidas realizadas a partir de um dado equipamento ou método empregado para realização de ensaios é alcançada com a repetitividade e acurácia das medidas, alcançado com comparação com valores-referência conhecidos. Dessa forma, devem ser utilizados os materiais de referência certificados (MRC's) oriundos de institutos confiáveis de aferição como por exemplo INMETRO, NIST, NRC, etc, que possuem valores conhecidos/certificados das análises. Estes são produzidos com finalidade de comparação para análise de material de matriz semelhante. Consequentemente, é possível uma avaliação do procedimento empregado a partir da comparação entre os valores obtidos com a análise realizada e os valores certificados. Obtém-se assim, maior precisão e exatidão e ainda permitindo a identificação de possíveis falhas de método ou instrumental empregado ao longo do processo, e possibilidade de aplicação do método a amostras reais (DOQ, 2013b).

Quando utilizados os MRC's para validação ou desenvolvimento de metodologias de análise, é necessária a avaliação dos parâmetros estatísticos

envolvidos, e a antecipação das condições experimentais, como por exemplo, os efeitos de matriz possíveis com determinada amostra. Desse modo, o desenvolvimento de procedimentos analíticos envolve, obrigatoriamente a declaração dos parâmetros relativos à seletividade, linearidade, faixa de trabalho e faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação, tendência/recuperação, precisão e robustez quando aplicáveis (DOQ, 2011). Todos esses parâmetros dependem de extensa avaliação por meio de testes estatísticos para aferição experimental e verificação da exatidão e aplicabilidade do processo de análise.

2.5.1 Calibração preliminar e Estatística descritiva

Inicialmente, existe a necessidade de calibração dos equipamentos que estiveram envolvidos no processo de obtenção dos dados experimentais, uma vez que qualquer medida possui uma incerteza associada (DOQ, 2011) e é importante ter conhecimento da dimensão desta. Conforme o aumento no grau de meticulosidade, há proporcionalmente um aumento na necessidade dos cuidados necessários. Por exemplo, análises laboratoriais normalmente requerem a utilização de balanças analíticas para a realização de medições. Tais balanças devem, de acordo com o requisito 5.5.2 da ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005, ser calibradas para determinar se atendem aos requisitos especificados pela análise e às especificações da norma pertinente (DOQ, 2012). Opta-se desse modo, por fazer também um ajuste do sistema de medição, ou seja, usar um peso correspondente a um ponto de medição para fins de teste do sistema. Outro exemplo são as micropipetas, que devem ser submetidas à aferição, a fim de verificar a exatidão e precisão da mesma.

Outro parâmetro importante a ser considerado é a estimativa da incerteza e dos erros gerais envolvidos no processo de medição (TAYLOR & KUYATT, 1994). É improvável atingir o 'valor verdadeiro' em um processo de quantificação, tendo-se em vista que inúmeras variáveis afetam as medidas ao longo de um procedimento e/ou podem combinar entre si e gerar respostas diferentes do resultado verdadeiro (SKOOG *et al.*, 2005). Podem-se minimizar os efeitos dos desvios em análises a partir da obtenção da estimativa da incerteza de medição. Em suma, é possível verificar fontes que predominam na incerteza de medição de

um mensurando em estudo, e erros instrumentais e/ou de metodologia. Essas estimativas permitirão que rapidamente possam ser realizados ajustes necessários para adequação do procedimento, atendendo aos limites toleráveis de erros ou desvios nas respostas obtidas (ABNT, 2003).

Deve-se executar ao menos 15 repetições nas medições da grandeza de entrada sob condições de repetitividade, índice mínimo recomendado pela ISO 5725 e definições complementares, para determinação da precisão, ou seja, o quanto os valores obtidos estão próximos entre si nas repetições realizadas, o que normalmente é verificado por análise de desvio-padrão (DOQ, 2011; 2013a). Com relação à exatidão, os valores médios obtidos em determinado procedimento são comparados àqueles tidos como verdadeiros, ou oriundos de procedimentos envolvendo técnicas, laboratórios ou metodologias diferentes, verificando a proximidade entre esses valores (recuperação).

Utilizando ANOVA (*Analysis of Variance* ou Análise de Variância) é possível verificar inicialmente os parâmetros com a estatística descritiva preliminar. Esta constitui-se, segundo definição de MONTGOMERY & RUNGER (2013), como “Um método para decompor a variabilidade total de um conjunto de observações, em uma soma dos quadrados dos componentes associados à variação”. Dessa forma, é imprescindível a utilização de métodos da ANOVA.

Para efeito de comparação entre médias de valores ao longo de um determinado ponto, é comum a utilização de métodos estatísticos como, por exemplo, o teste de Tukey. O objetivo deste teste é a verificação da semelhança entre as médias dos valores de pontos experimentalmente correlacionados. Dessa forma o teste possui como estratégia a definição da menor diferença significativa entre pontos, sendo comum a utilização de um intervalo de confiança IC = 95%. Outros testes estatísticos relevantes na observância da normalidade do conjunto de variáveis analisadas são Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. Sendo o primeiro altamente sensível as variações de valores analisados, e o último menos sensível às pequenas variações. Permitem a verificação da aderência à normalidade de uma vasta gama de dados, normalmente utilizado com $\alpha = 0,05$, e que fornece como resposta um p-valor (se $< 0,05$ quando os dados não apresentam distribuição normal, e maior que esta faixa quando existe aderência à normalidade) e histograma ilustrando a gaussiana característica.

2.5.2 Estatística multivariada de dados

Segundo HAIR *et al.*, (2006), estatística multivariada pode ser definida como um conjunto de métodos (ou técnicas) de análise simultânea de dados, ou seja, capaz de analisar simultaneamente várias variáveis. É indispensável em diversos ramos da ciência, suporte para Quimiometria por exemplo, que é uma aplicação direta dos métodos matemáticos e estatísticos para tratamento de dados de natureza química.

Entre os métodos mais comuns da estatística multivariada, pode-se citar (KANNEL *et al.*, 2008): Análise de *Cluster* (*Cluster Analysis* ou CA), que constitui-se um método de análise de agrupamentos, ou seja, relacionar grupos de dados em subgrupos específicos segundo a similaridade dos indivíduos ou objetos avaliados; Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis* ou PCA) com Análise Fatorial (*Factorial Analysis* ou FA) é uma abordagem estatística que visa a análise de inter-relação entre variáveis de um conjunto de dados, explicando as variações em termos dos parâmetros definidos como fatores (BRO & SMILDE, 2014). São, portanto, técnicas com variáveis interdependentes entre si; ainda é importante citar a Análise Discriminante (*Discriminant Analysis* ou DA), que poderia ser utilizada para confirmar os grupos encontrados por meio do CA e PCA, mas que difere dessas últimas por ser um método que correlaciona variáveis dependentes (HAIR *et al.*, 2006; WIECHUŁA *et al.*, 2006).

Os chamados fatores na PCA e FA objetivam a formação de conjuntos menores de variáveis estatísticas com a informação contida nas variáveis originais, que foram condensadas. Os dados passam por um processo de sumarização, de modo a gerar uma combinação entre as variáveis analisadas e explicar uma correlação entre estas. Dessa forma, a FA permite que todas as variáveis presentes sejam simultaneamente consideradas, mostrando as inter-relações entre elas (HAIR *et al.*, 2006; KANNEL *et al.*, 2008; CORRAR *et al.*, 2009). Cada dimensão de variabilidade comum é denominado de 'Fator'.

Antes do início do tratamento estatístico multivariado, é fundamental a realização de um teste para verificação da normalidade dos dados, como Kolmogorov-Smirnov ou Shapiro-Wilk, utilizado comumente, e geram histogramas com um p-valor em resposta. Se estes seguirem uma distribuição normal (para

todas as variáveis consideradas na análise), utiliza-se o teste de Pearson no tratamento dos dados. Se não seguirem uma distribuição normal, utiliza-se o método de Spearman. Normalmente é realizada uma transformação no conjunto de dados, no caso de distribuição não normal (HAIR *et al.*, 2006), embora seja necessária cautela ao realizar o procedimento (CORRAR *et al.*, 2009).

Os testes prescritos para análises estatísticas multivariadas podem ser realizados utilizando-se diversos tipos de *softwares* estatísticos, como por exemplo o SPSS® (*Statistical Package for the social Sciences*), *Action Stat*® desenvolvido na linguagem de programação R, *Minitab*® *Statistical Software*, *Statistica by StatSoft*® *Inc*, dentre outros pacotes computacionais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este tópico foi dividido em duas partes: A primeira parte, relaciona-se com a avaliação e aferição da metodologia de análise de sólidos por Espectroscopia de Raios X por Reflexão Total, sendo ajustados os parâmetros necessários. Nessa fase, foram analisados 6 tipos de materiais de diferentes matrizes, com intuito de avaliar a aplicabilidade e reprodutibilidade do método; Na segunda parte do estudo, é realizada a aplicação da técnica ao caso de monitoramento ambiental, mais especificamente ao estudo periódico da composição elementar de sedimento oriundo do córrego Bezerra, em Cascavel, região oeste do estado do Paraná.

3.1 Instrumental e material de preparo de amostras

Convém salientar que foram utilizados equipamentos em boas condições de uso, atendendo aos requisitos para realização de todas as medidas. Os reagentes utilizados estavam dentro das condições ideais de utilização, tais como validade e características físico-químicas recomendadas. Foram tomados cuidados durante todo o estudo realizado de manterem-se os reagentes, materiais e equipamentos dentro do padrão ideal para utilização. A seguir, é feito o detalhamento dos aparatos, bem como dos procedimentos realizados.

Balança analítica de modelo AY 220, marca Shimadzu (peso máximo 200g, precisão 0,0001 g), para pesagem; Capela de Fluxo Laminar com circulação de ar, para secagem asséptica das amostras; Estufa para secagem de amostras; banho ultrassônico para melhor dispersão do particulado em solução; chapa de aquecimento utilizada durante a lavagem dos discos. Não houve mudanças de equipamentos utilizados durante os experimentos. Os materiais utilizados foram: peneiras granulométricas, para verificação do tamanho de partícula; almofariz e pistilo, utilizado na moagem dos materiais que requeriam tal processo; pipetas e micropipetas previamente calibradas; tubos criogênicos de volume correspondente a 10 mL como recipiente contendo a amostra a ser processada; tubos de Eppendorf com capacidade para 2 mL para retirada de alíquota de padrão interno (não pode ser retirada diretamente do frasco, devido ao risco de contaminação das amostras);

tubos de acrílico para 10 mL com a amostra sólida moída; potes de volume 500 mL utilizados na coleta e armazenamento do sedimento antes da moagem; bécheres; espátulas.

3.1.1 Reagentes

Os reagentes utilizados foram: álcool isopropílico (Sigma-Aldrich) para limpeza de amostra anterior contida nos discos de quartzo; ácido nítrico (Sigma-Aldrich), para preparação de solução à 10% como intuito de retirada de vestígios de amostra; RBS™ (Sigma-Aldrich) para preparação de solução a 5%, sendo este uma espécie de detergente alcalino; ambos utilizados na limpeza dos discos, sendo os dois últimos na lavagem propriamente dita. Todos estes reagentes constituem-se de elementos químicos com baixo número atômico, e portanto não interferem nas análises realizadas; padrões internos monoelementares de 1000 mg/L de Se e de Ga (ambos Sigma-Aldrich) utilizados na quantificação elementar amostral; solução de Silicone (Serva), que possui como finalidade impedir a dispersão da amostra no disco (a irradiação ocorre no centro do disco, e uma dispersão para as bordas do mesmo provoca desvios na quantificação); Triton™ X-100 (Sigma-Aldrich) para preparação de solução 1%, com objetivo de manter o particulado em suspensão, sendo este um líquido altamente viscoso, não interferente na quantificação dos resultados e por último, água ultrapura obtida de sistema Milli-Q. Tanto a solução de Silicone quanto o Triton™ X-100, em semelhança aos reagentes utilizados para lavagem, não interferem nas leituras, pois sua composição elementar está abaixo do ponto detectável por TXRF, ou seja, números atômicos abaixo de 12.

3.1.2 Procedimentos analíticos

Todos os equipamentos foram calibrados seguindo-se as recomendações descritas pelos fabricantes. Não foram encontrados desvios significativos durante os procedimentos de calibração dos equipamentos utilizados no presente estudo, ou seja, os parâmetros de funcionamento do TXRF, bem como a aferição dos

instrumentos analíticos descritos à seguir estiveram todos dentro da faixa ideal. São descritos nos próximos tópicos, detalhes referentes aos procedimentos requeridos para a calibração do TXRF e demais instrumentos analíticos.

3.1.3 Aferição de instrumentos analíticos

A balança analítica (peso máximo 200g, precisão 0,0001 g, modelo AY 220 e marca Shimadzu) utilizada foi calibrada previamente utilizando-se um peso padrão de 200 g, oriundo do fabricante. No procedimento de análise foi tomado cuidado para que não houvesse ventilação próximo ao local de pesagem ou encostar nos aparatos utilizados, sem luvas.

As duas micropipetas de volume variável utilizadas possuem, respectivamente: volume máximo 1 μL /20 μL e 100 μL /1000 μL , imprecisão 0,5% e 0,15%, inexatidão de 1% e 0,8%, ambas de modelo Kasvi Basic. Foram aferidas mediante o uso da balança analítica previamente calibrada, sendo o volume calibrado através da densidade da água pesada. Foram construídas curvas de calibração para as micropipetas, sendo utilizadas aquelas com baixo desvio-padrão entre os volumes medidos e com $R^2 > 0,98$. Desse modo, foi tentado minimizar os erros sistemáticos em procedimentos posteriores de análise, aonde se requeiram massas e volumes com valores confiáveis e precisos.

3.1.4 Limpeza dos refletores de quartzo

Inicialmente, realiza-se a limpeza dos discos de quartzo (dimensão 30 mm de diâmetro e 3 mm de espessura, fabricados pela Bruker). Estes foram limpos utilizando-se álcool isopropílico com intuito de isentar a superfície dos discos de amostras depositadas em análises anteriores. Posteriormente, em carrossel circular de Teflon os discos são acondicionados e fixados para imersão completa em béquer de 1 L contendo solução de RBSTM a 5% - detergente recomendado pelo fabricante para a lavagem dos discos – sendo mantidos sob aquecimento a temperatura de 70°C por 40 minutos. Após a primeira lavagem, enxaguou-se os discos com água Milli-Q, para em seguida imergi-los numa segunda solução de

lavagem, contendo ácido nítrico a 10%, para retirada dos contaminantes de difícil remoção com a solução de RBS™, sendo também mantido à temperatura de 70°C por 2 horas. Após a segunda lavagem, enxaguaram-se os discos com água Milli-Q. Finalmente foram lavados em água ultrapura Milli-Q e submetidos a posterior aquecimento a temperatura de 70°C por 1 hora.

3.2 Instrumental de caracterização da composição

Tendo como objetivo o desenvolvimento de metodologia na análise elementar de amostras de sólidos particulados e sua aplicação em amostras de sedimento, utilizou-se o equipamento de espectrometria atômica de raios X: TXRF modelo S2 PICOFOX™, da marca Bruker. O mesmo encontra-se instalado e operando no laboratório Central Analítica do Programa de pós-graduação em Engenharia Química do campus da UNIOESTE em Toledo, Paraná.

3.2.1 Espectrômetro de Fluorescência de Raios X com reflexão total

Foi utilizado o equipamento TXRF (*Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometer*), modelo S2 PICOFOX™ da marca Bruker, para o desenvolvimento de metodologia para análise de particulados sólidos. O S2 PICOFOX™ é um espectrômetro capaz de realizar medidas rápidas, envolvendo microanálise multielementar, quantitativa e semiquantitativa, de líquidos e sólidos. Utiliza-se como princípio de funcionamento a espectroscopia por fluorescência de raios X com reflexão total ou simplesmente TXRF.

O princípio de funcionamento de um S2 PICOFOX™ tem como base o uso da fluorescência de raios X quando há a reflexão total, que ocorre geralmente em ângulos de incidência quase rasantes sobre um disco refletor, preferencialmente, constituído de quartzo. Como fonte de ionização e/ou geração de raios X utiliza-se um tubo de raios X resfriado por ar (potência máxima 30 W, tensão de 50 kV, corrente do filamento de 600 μ A, com alvo de molibdênio), gerando-se um feixe de raios X contendo de forma superposta uma contribuição de espectro contínuo de

energia, do tipo *Bremsstrahlung*, e uma contribuição de espectro discreto oriundo da fluorescência no alvo de molibdênio.

Visando melhorar a sensibilidade e acurácia da análise, o feixe policromático é reduzido a uma gama estreita de energias por um monocromador multicamada, além de emergir raios X paralelos. No equipamento S2 PICOFOX™, o ângulo de *Bragg* para uma multicamada de 2,88 nm de espaçamento tem em torno de 0,7° graus, dessa forma a amostra é irradiada com baixos ângulos, ao contrário da ED-XRF tradicional (CARVALHO *et al.*, 2007), o que é característico da técnica TXRF.

Os raios X monocromáticos e paralelos, assim definidos, são direcionados sobre um refletor polido, geralmente de quartzo, que serve de suporte de amostra. Ajustando o ângulo de incidência para menor que 0,1°, o feixe monocromático de raios X é totalmente refletido, irradiando por completo a fina camada de amostra depositada no suporte de quartzo. Um detector de estado sólido (*Peltier-cooled XFlash® Silicon Drift Detector*, com área ativa de 30 mm², resolução FWHM menor que 150 eV na linha espectral Mo-K α), com ângulo sólido amplo, posicionado na frente do suporte da amostra, capta quase toda a radiação fluorescente vinda da amostra, discriminando-a em energia e fornecendo a intensidade ou integração em cada linha espectral característica dos elementos químicos constituintes da amostra. Uma eletrônica nuclear padrão geralmente processa os sinais elétricos gerados pelo detector, amplificando o sinal e gerando um espectro de raios X na faixa de 1 a 17 keV (BRUKER, 2011).

Tanto numa análise qualitativa na identificação de elementos químicos através de suas linhas espectrais de raios X características como numa análise quantitativa convertendo a intensidade da linha espectral principal (seja K α ou L α) em concentração, requerem-se verificações e correções do status operacional do instrumental tais como a correção do ganho de amplificação (ou *Gain correction*) do sinal do detector processado, a largura a metade da altura da linha espectral (ou *Full Width at Half Maximum – FWHM < 150 eV*) utilizada no ajuste de picos gaussianos das linhas espectrais, e na sensibilidade elementar que permite correlacionar a intensidade do pico gaussiano da linha espectral principal com a concentração do analito presente na amostra. A Tabela 3.1 elenca os parâmetros operacionais do equipamento.

Entre os principais elementos determinados pela técnica TXRF, pode-se citar: arsênio, bário, bromo, cálcio, cério, chumbo, cloro, cobalto, cobre, cromo,

ferro, fósforo, enxofre, estrôncio, manganês, níquel, potássio, selênio, titânio, vanádio e zinco, sendo a concomitantemente quantificação destes elementos químicos o foco dos estudos realizados.

Tabela 3.1 - Parâmetros operacionais do S2 PICOFOX™

| Parâmetros | |
|--------------------------|--|
| Ânodo do tubo de raios X | Molibdênio |
| Voltagem | 50 Kv |
| Corrente | 600 µA |
| Energia | 20 keV |
| Detector | XFlash ® com sistema de refrigeração Peltier |
| Tempo de irradiação | 1000 s |
| Discos | Quartzo |

Para garantir uma alta capacidade ao longo do tempo de funcionamento, as mudanças na corrente e tensão são feitas pelo software SPECTRA7™ de acordo com as normas definidas pelo fabricante. Isto também implica em um tempo de irradiação da amostra definido pelo analista, seguindo-se a necessidade específica da amostra em questão, no presente caso ajustado para 1000 segundos. A Figura 3.1 ilustra um TXRF modelo S2 PICOFOX™ marca Bruker:



Figura 3.1 – TXRF modelo S2PICOFOX™
Da marca Bruker.

3.2.2 Quantificação elementar

A quantificação ou concentração de elementos por TXRF utilizando o modelo S2 PICOFOX™ com tubo de molibdênio, modelo Bruker, baseia-se na sensibilidade relativa dos elementos submetidos à irradiação, do espectrômetro e do padrão interno adicionado, conforme demonstrado na Equação 3.1 (BRUKER, 2011):

$$C_i = \frac{C_{IS} \cdot N_i \cdot S_{IS}}{N_{IS} \cdot S_i} \quad 3.1$$

C_i : Concentração do elemento a ser analisado (mg/kg);

C_{IS} : Concentração do padrão interno (mg/kg);

N_i : Número de impulsos no espectro de medição do elemento analisado;

N_{IS} : Número de impulsos dentro do espectro de medição do padrão interno;

S_i : Sensibilidade relativa do elemento i ;

S_{IS} : Sensibilidade relativa do padrão interno.

A sensibilidade indica a intensidade dos picos dos respectivos elementos em relação à quantidade de amostra, conforme descrito na literatura (BRUKER, 2011). A sensibilidade aos elementos, e com eles os limites de detecção, variam numa ampla faixa de valores. Existem diversas razões para isso, dentre as quais se destacam os efeitos quânticos oriundos dos átomos presentes na amostra, os rendimentos de fluorescência, bem como relacionadas com o instrumento como a eficiência quântica dependente da energia do detector. É possível ajustar a sensibilidade por meio do ajuste da radiação de excitação conforme descrito a seguir.

3.2.3 Limite de detecção

O limite de detecção (LLD) depende diretamente o *Background* ou “área de fundo” gerado pelo espectro baseado na radiação. Dessa forma, pode-se afirmar que o limite de detecção é uma inspeção estatística da área do pico e do espectro

de fundo gerado (BRUKER, 2011). O mecanismo de cálculo é dado conforme descrito na Equação 3.2 a seguir:

$$LLD_i = \frac{3 \cdot C_i \sqrt{N_B}}{N_i} \quad 3.2$$

LLD_i: Menor limite de detecção do elemento i (mg/kg);

C_i: Concentração do elemento i (mg/kg);

N_i: Área do pico de fluorescência em contagem;

N_B: Área do fundo subjacente ao pico de fluorescência.

3.3 Testes de controle de qualidade do equipamento

O controle de qualidade das análises realizadas em um TXRF está diretamente ligado à capacidade de resposta desse equipamento, sendo assim, é necessário que o laboratório analítico possua um sistema de gestão da qualidade eficiente e aplicável ao equipamento, para que seja alcançada confiabilidade nos resultados obtidos em trabalhos analíticos. Um dos componentes básicos do sistema de controle é o monitoramento dos dispositivos de medição analítica. A Tabela 3.2 apresenta uma introdução sobre o monitoramento dos recursos analíticos mais importantes de um TXRF, modelo S2 PICOFOX™ da marca Bruker, que devem ser monitorados regularmente:

| Parâmetro | Periodicidade |
|----------------------------------|---------------|
| Correção de ganho | Diário |
| Resolução Espectroscópica (FWHM) | Mensal |
| Sensibilidade | Mensal |
| Acurácia na quantificação | Mensal |

Todos estes testes devem ser realizados depois de uma fase de aquecimento do tubo de raios X por ao menos 60 minutos. Os espectros gerados para o *Gain correction* ou “correção do ganho” são salvos automaticamente pelo *software* do equipamento. Para todos os outros parâmetros, um protocolo deve ser

criado de acordo com o sistema de gestão da qualidade descrito pela empresa fabricante.

3.3.1 “Correção de ganho” ou *Gain Correction*

A “correção de ganho” ou *Gain Correction* inclui um ajuste fino na amplificação da eletrônica padrão por meio de um padrão monoelementar de arsênio. Essa correção não inclui apenas a inspeção de um parâmetro de instrumento, mas simultaneamente, o ajuste do valor nominal. Ou seja, para encontrar a relação linear entre a posição e a energia, basta um único ponto para corrigir eventual deslocamento por aquecimento da eletrônica. A variação deste valor é dado por um valor adimensional, fornecido pelo *software* do equipamento após análise, sendo o valor esperado de ± 1024 . Valores de ganho reais indicam desvios anormais em relação ao valor nominal.

3.3.2 Resolução espectroscópica (FWHM)

A resolução espectroscópica tem influência significativa sobre o desempenho do equipamento. O termo utilizado na definição desse parâmetro é dado em inglês como *Full-Width Half-Maximum* (FWHM) que significa largura total do pico a meia altura. Nesse procedimento é utilizado um disco contendo uma concentração conhecida de manganês no centro, sendo o pico Mn-K α utilizado como referência. Uma deterioração nos valores encontrados para resolução é uma indicação de um defeito dentro do detector ou a partir do amplificador de sinal se o desvio do novo valor FWHM for maior do que 10% em comparação com o estado de entrega pelo fabricante, a empresa fabricante deve ser consultada uma vez que esse é um considerado significativo.

3.3.3 Sensibilidade

É o parâmetro que indica a sensibilidade absoluta do equipamento. Este valor não deve ser equiparado com o limite de detecção para um determinado elemento em uma determinada amostra. A sensibilidade é determinada pela medição de uma amostra de níquel, que tem a intensidade de fluorescência padronizada em massa, do tempo e da corrente do tubo que é detectado pelo presente instrumento. A taxa de contagem mais elevada relaciona-se com uma maior sensibilidade instrumental. Essa medida é importante, pois constitui-se como indicador sobre o ajuste do feixe de radiação e da deterioração do tubo de raios X. No caso de uma suspeita de desajuste do feixe, deve ser refeito o procedimento com uma amostra distintamente mais intensiva que na primeira tentativa. Em caso de uma queda súbita de sensibilidade de mais de 20%, o que não pode ser compensada por meio de ajuste ou por aumento da concentração do elemento no padrão, o serviço deve ser consultado (BRUKER, 2011).

3.3.4 Acurácia na quantificação

Esse procedimento é de teste que visa a verificação da capacidade de quantificação elementar do instrumento. A vigilância do processo analítico completo a partir da amostragem para o resultado analítico é realizada, sendo que inicialmente se prepara um disco padrão com 10 elementos com a mesma concentração entre si e que são comumente analisados pela técnica de TXRF, se faz a leitura utilizando um deles como padrão interno. No caso do equipamento S2 PICOFOX™, é fornecido o disco com os elementos para análise, pelo fabricante. A precisão é testada por meio de um padrão de múltiplos elementos químicos com concentrações de elementos conhecidos. Neste processo, é recomendado que as concentrações dos elementos estejam em uma faixa a partir de 1 mg/L. O desvio da análise particular deve ser menor do que 10% sendo que em casos de desvios maiores, uma análise de erro deve ser realizada (BRUKER, 2011).

3.4 Preparo de amostras em pó

As amostras sólidas foram moídas, caso a granulometria testada apresentasse valor superior à faixa de 50 μm . Isso se deve a necessidade de suspensão dos mesmos num meio viscoso, a fim de evitar a rápida precipitação do particulado, que iria gerar perda de representatividade da amostra. A quantidade requerida de amostra nas análises envolvendo TXRF é de aproximadamente 20-50 mg conforme explicitado pelo fabricante do equipamento (BRUKER, 2011; BEAUCHAINE, 2013). Em seguida, essas amostras foram pesadas em balança analítica e depositadas em tubo criogênico. Posteriormente adicionou-se 2,5 mL de TritonTMX-100 (Sigma-Aldrich) a 1% em volume (não pode ser mais concentrado, pois em caso contrário, a amostra não secaria no disco) com o intuito de suspensão das partículas em solução e então foi adicionado cerca de 10 μL de padrão interno (Se ou Ga, dependendo da natureza da amostra em questão) na solução.

Posteriormente as amostras foram submetidas a banho ultrassônico por 30 minutos, a fim de homogeneizar e dispersar o particulado em suspensão. O passo seguinte foi dispensar 5 μL de solução silicone no centro do disco de quartzo limpo e seco, para logo em seguida pipetar e adicionar sobre o centro de mesmo disco a amostra. A adição da solução de silicone anteriormente à aplicação da amostra permite que esta não sofra difusão ao longo do disco, saindo do centro e concomitantemente sendo irradiada de modo ineficiente. Sequencialmente, os discos contendo amostra foram secos em capela de fluxo laminar por aproximadamente 24 horas e, em seguida, depositados em suporte do equipamento para serem conduzidos ao equipamento e irradiados. Um esquema representativo é ilustrado conforme Figura 3.2; e a Figura 3.3 ilustra os procedimentos analíticos descritos:

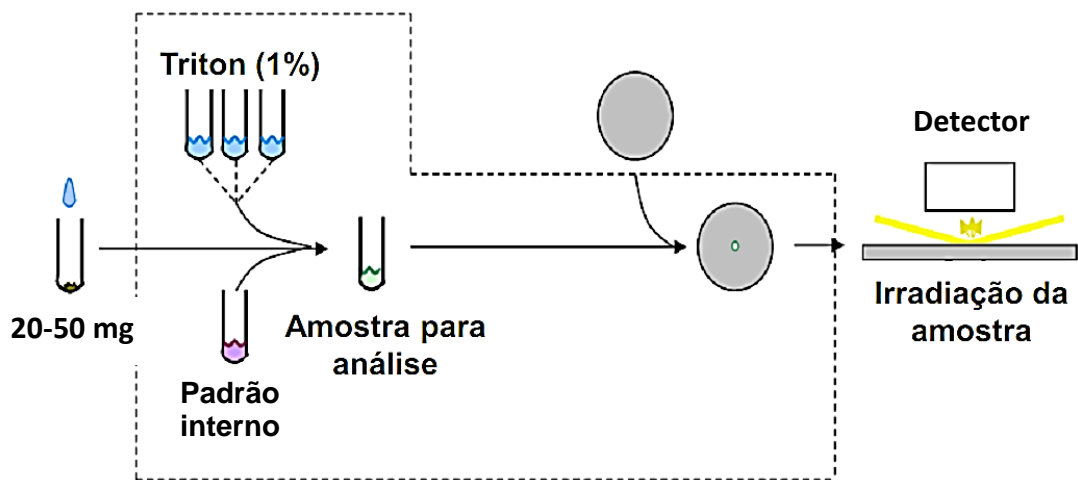


Figura 3.2 – Esquema para preparo de amostra sólida.
 Fonte: Adaptado conforme BEAUCHAINE (2013).

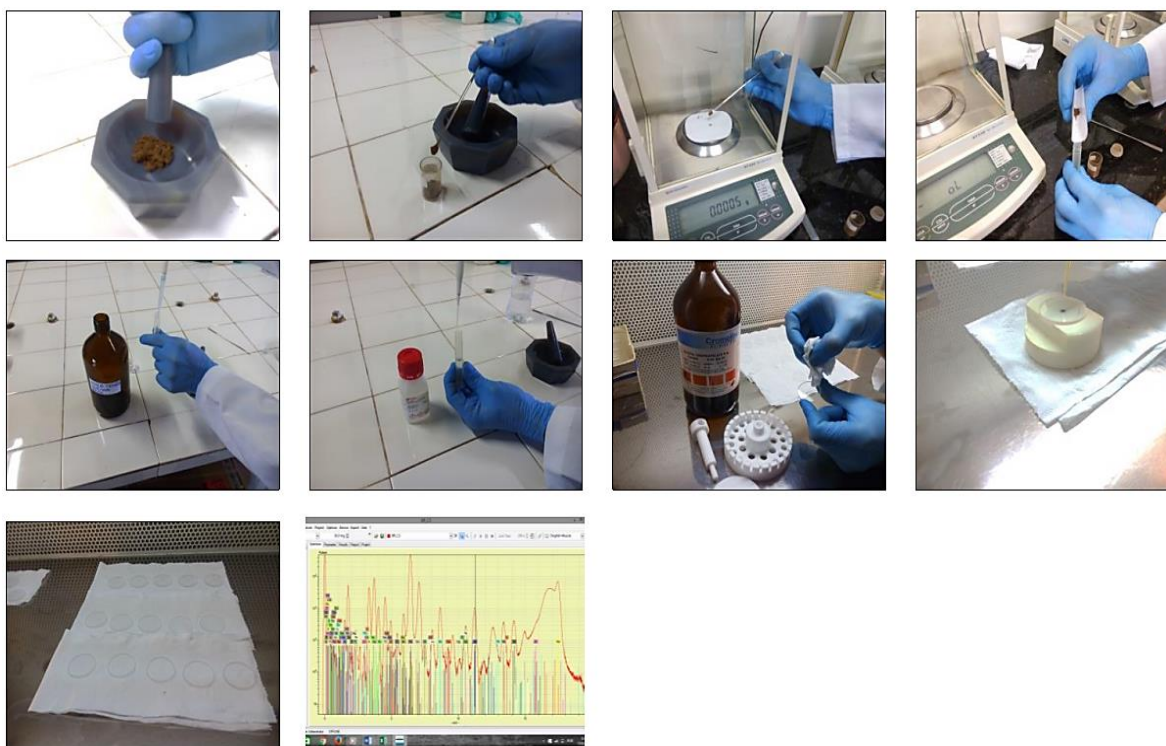


Figura 3.3 – Fotos ilustrando o procedimento experimental.

Cada amostra a ser analisada em TXRF exige cuidados específicos, sendo de fundamental importância que se tenha um conhecimento prévio das características relativas à natureza do material analisado, bem como das particularidades relativas à detecção elemental realizada por TXRF e desvios conforme descrito no capítulo 2.

3.4.1 Sedimento de rio (*Buffalo River 8704* ou MRC 8704)

O padrão sólido certificado de sedimento de rio *Buffalo River 8704* ou simplesmente (MRC 8704) é um material sólido de natureza inorgânica. Constitui-se basicamente de material sedimentário oriundo do rio Buffalo, em Nova York, nos Estados Unidos. Os procedimentos analíticos realizados com esse material possuem certificação pelo *National Institute of Standards & Technology* (NIST) instituto que realiza validação de metodologias e certificação de análise de materiais com intuito de comparação, quando utilizando-se de procedimentos envolvendo materiais de matriz semelhante ao certificado (MAY *et al.*, 1999; ISO GUIDE 32, 1997; MACKKEY *et al.*, 2010). O Anexo A (ou NIST, 2000) possui uma descrição detalhada do material em questão.

O material sedimentário apresentado nessa descrição possui como característica, granulometria inicial abaixo de 50 μm , sendo, portanto dispensável a moagem prévia do material. Pesou-se inicialmente a quantia aproximada de 30 mg de amostra sólida em balança analítica previamente calibrada e tarada e adicionou-se 2,5 mL de Triton™ 1%. Em seguida colocou-se 10 μL do padrão interno de selênio (Sigma-Aldrich), com concentração inicial de 1000 mg/kg. A concentração final de Se para este caso foi de aproximadamente 350 mg/L, o que mostrou-se mais vantajoso na recuperação tanto dos elementos majoritários quanto dos minoritários presentes, em comparação com outras concentrações testadas. A solução resultante foi submetida a banho ultrassônico por um período de 30 minutos, a fim de homogeneizar e dispersar as partículas em solução.

Os discos foram secos em capela de fluxo laminar com o intuito de evitar contaminações do meio, por um período de 24 horas antes de serem irradiados para análise por TXRF. No equipamento, utiliza-se o *software* SPECTRA7™ para descrição dos parâmetros ideais para realização da análise, ou seja, os valores reais de massa de amostra e do padrão interno pesados em balança analítica, tempo de irradiação da amostra, no presente caso 1000 segundos, e a lista de elementos químicos para identificação/quantificação. É conveniente lembrar que a limitação da técnica consiste na incapacidade de detecção de elementos de baixo número atômico, tais como sódio, carbono, magnésio, (POLGÁRI *et al.*, 2011) que estão presentes na amostra de *Buffalo River 8704*, mas não podem ser

quantificados devido ao efeito Auger concorrente. Além disso, as linhas K α geradas possuem baixas energias, sendo deslocadas à parte inicial do espectro, região em que há diversas linhas L α de elementos pesados, gerando sobreposição de picos e conseqüentemente erros na quantificação.

O procedimento foi realizado em quintuplicatas analíticas e experimentais, totalizando-se 25 leituras, nas condições experimentais ideais que seguiram os passos descritos anteriormente. Foram realizados testes para investigação da influência da secagem do padrão em estufa a 105°C por 24 horas, nos valores de recuperação, bem como os efeitos do aumento da concentração da solução de Triton™ X-100 de 1% para 2% em volume.

3.4.2 Fígado Bovino (*Bovine Liver 1577c* ou MRC 1577c)

O Material certificado *Bovine Liver 1577c* ou (MRC 1577c) constitui-se como material de natureza orgânica (fígado bovino), sendo este seco e pulverizado no preparo preliminar NIST (2009). Basicamente, foram selecionados animais sadios dos quais coletou-se e preparou-se o material (homogeneização, secagem, moagem) para posteriores análises e validação. Foram realizados testes em laboratórios diferentes e seguindo-se um rígido protocolo desenvolvido para manter as características originais do material quanto a composição e cuidados para evitar contaminação (MAY *et al.*, 1999). Todos os procedimentos realizados com o preparo inicial do material, bem como as análises realizadas com intuito de validação e certificação seguiram-se conforme descrição em NIST (2009), contido no Anexo B. É um material que possui características adversas em relação ao material apresentado anteriormente (MRC 8704), portanto, pequenas alterações foram necessárias no procedimento de análise em relação àquele, conforme descrição seguinte.

O MRC 1577c não possui especificação granulométrica no certificado do produto (NIST, 2009) sendo necessária a verificação deste parâmetro, que é indispensável para o tipo de análise proposto (BRUKER, 2011). Foi utilizado peneira de 325 Mesh para verificação de diâmetro de partícula, sendo que uma alíquota foi dispensada e peneirada, uma vez que toda a amostra passou pela peneira a amostra possui granulometria abaixo de 45 μ m, o material é considerado

propício de utilização sem a necessidade de moagem no decorrer do procedimento experimental.

Pesou-se inicialmente a quantidade de aproximadamente 30 mg de amostra sólida, adicionou-se 2,5 mL de Triton™ 1% e em seguida 10 µL do padrão interno de gálio (Sigma-Aldrich). A não utilização de Se justificou-se pelo fato de que a identificação deste último foi um dos objetivos da análise. A concentração inicial de Ga foi de 1000 mg/kg correspondendo a aproximadamente 350 mg/kg de concentração na amostra, valor que permite a recuperação da maior parte dos elementos passíveis de identificação e quantificação. A solução resultante foi agitada e submetida a banho ultrassônico (DE LA CALLE *et al.*, 2012) por um período de 30 minutos. Em seguida, foi adicionado 5 µL de solução de silicone no centro de cada disco de quartzo previamente limpo e posteriormente à secagem do silicone, é finalmente dispensada 5 µL de amostra em disco.

Os discos foram secos em fluxo laminar, por um período de 24 horas antes de serem irradiados para análise por TXRF. As leituras foram realizadas em quintuplicata analítica e triplicata experimental, totalizando 15 ensaios.

3.4.3 Farinha de Ossos (*Bone Meal 1486* ou MRC 1486)

O padrão sólido *Bone Meal 1486* ou simplesmente (MRC 1486) constitui-se de uma farinha de ossos, material com características divergentes em relação aos apresentados anteriormente. Como é um material de alta densidade, obteve-se, apesar dos bons resultados na identificação, alguns desvios na quantificação elementar.

Em relação aos elementos constituintes, alguns estão na ordem de porcentagem como cálcio e fósforo em contraste com os demais elementos, na faixa de mg/kg. A granulometria especificada no certificado oficial do produto está na faixa de 355 µm, dessa forma o material precisou ser moído com almofariz e pistilo, até que a granulometria estivesse em índice inferior a 50 µm, parâmetro recomendado para análises por TXRF. Ainda seguindo-se as especificações referentes à amostra, esta teve de ser seca em estufa a 105°C por 2 horas, conforme sugestão de NIST (1992) contida no Anexo C e dado prosseguimento às medições. Foi utilizado como padrão interno de Se para realização das leituras. Os

demais procedimentos analíticos seguem conforme descrito para as amostras de MRC 8704 e MRC 1577c. As leituras foram feitas em quintuplicata analítica e triplicata experimental.

3.4.4 Músculo de Peixe Cação (*Dogfish Muscle* ou DORM-2)

O músculo de peixe Cação ou *Dogfish Muscle* (DORM-2) utilizado é um material de referência certificado obtido a partir do peixe cação (*Squalus acanthias*), um tubarão da espécie elasmobrânquio esqualiforme e família *Squalidae* (SULIKOWSKI *et al.*, 2013). Este material de referência é destinado para utilização como padrão no desenvolvimento de metodologia com intuito de análise de animais marinhos, bem como de materiais com um semelhante matriz conforme exemplificado em ESPINOZA-QUIÑONES *et al.* (2010).

As análises referentes às concentrações elementares do MRC DORM-2 foram certificadas pelo *National Research Council* (NRC) no Canadá, por métodos de análise e/ou laboratórios independentes para atestar a repetibilidade (precisão) e exatidão do procedimento experimental (NRC, 1993), Anexo D. Possui como um dos pontos diferenciais em relação aos demais padrões utilizados ao longo deste estudo, o fato de que as concentrações elementares são consideravelmente menores em relação, estando na ordem de poucos mg/kg. Desse modo, fez-se necessário a redução da concentração do padrão interno utilizado com o intuito de recuperação dos valores certificados.

Pesou-se inicialmente a quantia aproximada de 30 mg de amostra sólida, adicionou-se 2,5 mL de TritonTM 1% e por último, cerca de 5 µL do padrão interno de Ga, sendo a utilização deste justificada no fato de que amostra possui quantidade relevante de Se. A concentração do Ga para este caso foi de aproximadamente 175 mg/L, metade do valor utilizado para os demais padrões. Optou-se por diminuir a concentração do padrão interno ao invés de reduzir a massa. Também não foi considerada a hipótese de diluição do padrão interno pois acrescentaria possíveis erros referentes ao procedimento de diluição. Como o certificado não especifica a granulometria final, optou-se pela moagem da amostra até que esta atingisse uma faixa abaixo de 50 µm. O procedimento experimental foi realizado em quintuplicata analítica e triplicata experimental.

3.4.5 Farinha de Arroz (*Rice Flour 1568a* ou MRC 1568a)

Material certificado sólido, obtido a partir de matriz orgânica, que constitui-se como referência primária na calibração de equipamentos bem como na medição da confiabilidade de métodos analíticos como determinação elementar em amostras de matriz semelhante, normalmente na área de produtos agrícolas, voltados para a alimentação. Com exceção do enxofre, todos os demais elementos foram determinados originalmente utilizando ao menos duas metodologias de análise diferentes para fins de quantificação (NIST, 1995a), Anexo E.

O material de referência MRC 1568a originalmente possui granulometria na faixa de 450 μm , conforme informado por NIST (1995a). Como é requerida para análise por TXRF amostras com tamanho menor que 50 μm , foi necessário a moagem das amostras para prosseguimento experimental. O procedimento deu-se a partir da pesagem de aproximadamente de 30 mg de amostra sólida, adicionou-se 2,5 mL de Triton 1% e em seguida 10 μL do padrão interno de Se, em similaridade com MRC 8704 e MRC 1577c. Dessa forma, seguiu-se de modo similar em relação à análise de outros padrões sólidos, mostrando-se a alternativa mais eficiente. As leituras foram realizadas em quintuplicata analítica e triplicata experimental.

3.4.6 Folha de Tomate (*Tomato Leaves 1573a* ou MRC 1573a)

Este material de referência certificado MRC 1573a é utilizado em diversos estudos espectrométricos (MÓDENES *et al.*, 2013; DE LA CALLE *et al.*, 2013c), sendo parâmetro para comparação, assim como demais materiais listados anteriormente. Possui características similares ao MRC 1568a, no entanto também pode ser utilizado em estudos que envolvem quantidades elementares maiores em relação àquele. Maiores detalhes sobre o material estão presentes no Anexo F.

Para seguimento da análise, fez-se necessário a moagem da amostra, uma vez que esta encontra-se com granulometria inicial de 75 μm (NIST, 1995b), optando-se por diminuir o tamanho das partículas. Também foi realizada secagem do material, a 60°C por 24 horas. Em seguida foi dado prosseguimento à análise, sendo pesado 30 mg de amostra, adicionado 2,5 mL de Triton™ (1%) e 10 μL de

padrão interno de Se em cada tudo criogênico. Os ensaios foram realizados em quintuplicata analítica e triplicata experimental, os demais procedimentos foram similares ao aplicado a MRC 1568a.

3.4.7 Amostras de sedimento do córrego Bezerra

A técnica desenvolvida para análise de sólidos foi utilizada com o intuito de aplicação a amostras reais, no presente caso de sedimento do córrego Bezerra, localizado em Cascavel, no oeste do estado do Paraná. A metodologia de análise para os procedimentos analíticos envolvendo o tratamento das amostras foi baseado no procedimento realizado com MRC 8704. Na coleta e preparação inicial das amostras recolhidas foram utilizados conceitos de sedimentometria como por exemplo: definição dos pontos de coleta para monitoramento, preparação do material, definição do material adequado, verificação do clima antes da coleta, utilização de técnicas de amostragem, etc, (CARVALHO *et al.*, 2000).

Foram definidos 3 pontos de coleta ao longo do córrego Bezerra, todos dentro do perímetro urbano da cidade de Cascavel. O ponto 1 localiza-se próximo do hospital Universitário do município, o ponto 2 próximo de tráfego intenso de veículos e o ponto 3, logo após despejo de efluente no rio. A localização exata dos pontos está descrita na Tabela 3.3 e os pontos de coleta na Figura 3.4. O período de coleta de amostras ocorreu entre os anos de 2012, 2013 e 2014, sendo as coletas realizadas em regime trimestral, totalizando 12 coletas em 3 anos, ou seja 36 amostras.

Tabela 3.3 – Localização dos pontos de coleta (OBREGÓN *et al.*, 2014)

| Ponto | Latitude | Longitude | Altitude (m) |
|-------|----------------|----------------|--------------|
| P1 | 24°58'11,79" S | 53°30'05,14" W | 702 |
| P2 | 24°57'37,77" S | 53°29'50,94" W | 671 |
| P3 | 24°55'22,09" S | 53°30'27,72" W | 634 |

As amostras coletadas foram inicialmente secas em estufa a temperatura de 80°C por 72 horas, depois submetidas à separação preliminar sendo retiradas folhas, galhos, pedras grandes. Em seguida foi realizada a moagem do material já seco, utilizando um almofariz com pistilo de ágata, até atingir granulometria abaixo de 50 µm ou 325 Mesh. Foram moídos cerca de 1 g de amostra (quantia que seria

necessária para análises de TXRF, XRD e FT-IR, por exemplo) sendo que esse procedimento de moagem demorou cerca de 45 minutos por amostra (N=36). A Figura 3.5 ilustra as amostras antes e depois do procedimento de moagem.



Figura 3.4 - Pontos de coleta das amostras. Superior à esquerda, encontra-se o ponto 1. Superior à direita o ponto 2, e abaixo na Figura, duas fotos do ponto 3.

Os procedimentos analíticos posteriores seguiram-se conforme realizado com o MRC 8704, no entanto foram feitas triplicatas analíticas para cada ponto considerado. Com os resultados dos padrões certificados e boa resposta do equipamento entendeu-se que podia ser realizada quantidade menor de réplicas, pois a metodologia havia sido avaliada anteriormente. Na Figura 3.6 é possível ver as amostras de sedimento no disco de quartzo, dentro de capela de Fluxo laminar, durante secagem.



Figura 3.5 - Amostras de sedimento antes e depois da moagem.

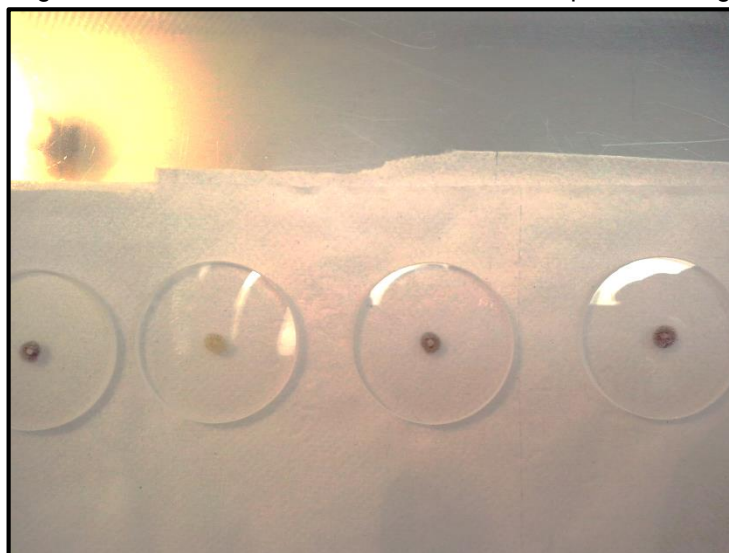


Figura 3.6 - Discos de quartzo em fluxo laminar contendo amostras de sedimento.

3.5 Análise Estatística dos dados

3.5.1 Cálculos e considerações estatísticas

Na estatística descritiva, alguns métodos assumem grande importância para análise estatística preliminar dos dados obtidos. Dessa forma, na avaliação da metodologia a partir dos MRC's foi realizada a verificação dos parâmetros estatísticos preliminares. Foram realizadas várias réplicas, e calculado as médias, o desvio-padrão, os erros e a recuperação em relação aos valores certificados. Na análise do sedimento do córrego Bezerra, foi realizado ANOVA e relatado a média,

valores de máximo e mínimo, o desvio-padrão e a variância para os 11 elementos elencados.

A variância é uma medida de dispersão usada na representação da média do quadrado dos desvios dos elementos em relação à média populacional. O desvio-padrão é uma medida de dispersão de dados, calculado através da raiz quadrada da variância. Associado à média e um elevado número de réplicas, o valor obtido pelo desvio-padrão apresenta a tendência central dos dados obtidos com a avaliação, além de inferir robustez e confiabilidade aos resultados.

Em FLOOR *et al.* (2015) é feita uma descrição detalhada dos cálculos necessários à boa interpretação dos dados obtidos por análises de TXRF. São realizadas medidas e analisada a incerteza nas medições. A metodologia para os cálculos nesse presente trabalho se baseou nesse caso em particular, amparado por outras referências importantes especificamente na área de TXRF (FERNÁNDEZ-RUIZ, 2008; BRUKER, 2011).

A recuperação, dos valores em relação ao especificado pelo certificado oficial do MRC, objetivo principal dos ensaios realizados, é dada de modo simplificado pela Equação 3.3 (DOQ, 2011; FLOOR *et al.*, 2015):

$$R (\%) = \frac{[M] \pm \Delta M}{[MRC] \pm \Delta MCR} \cdot 100 \quad 3.3$$

Em que:

R (%) = Recuperação no valor esperado em relação ao prescrito pelo MRC;

M = Média aritmética dos valores medidos (kg);

MRC = Valor de referência contido no certificado do material analisado (kg).

ΔM = Desvio-padrão referente à média aritmética de valores medidos (kg);

ΔMRC = Desvio-padrão referente ao valor de referência contido no certificado do material analisado (kg);

Uma forma de avaliação da exatidão dos resultados obtidos faz-se por meio da verificação do erro relativo (ER) obtido com o procedimento, conforme equação 3.4 (DOQ, 2011):

$$ER (\%) = \frac{[M] - [MCR]}{[MCR]} \cdot 100 \quad 3.4$$

Em que:

M = Média aritmética de valores medidos (kg);

MRC = Valor de referência contido no certificado do material analisado (kg).

Adicionalmente, foi realizada propagação dos erros (PE) para análise dos dados referentes aos MRC's, conforme equação 3.5:

$$PE (\%) = \sqrt{\left(\frac{[\Delta M]}{[M]}\right)^2 + \left(\frac{[\Delta MRC]}{[MRC]}\right)^2} \cdot 100 \quad 3.5$$

Em que:

M = Média aritmética de valores medidos (kg);

MRC = Valor de referência contido no certificado do material analisado (kg);

ΔM = Desvio-padrão referente à média aritmética de valores medidos (kg);

ΔMRC = Desvio-padrão referente ao valor de referência contido no certificado do material analisado (kg);

A concentração elementar obtida pode ser explicitado conforme Equação 3.6 que diferentemente da Equação 3.2, avalia adicionalmente a influência da diluição do padrão interno, assim como concentração inicial adicionada, sensibilidade elementar do equipamento relativa ao elemento analisado e a relação de intensidade (contagens) entre o elemento analisado e o padrão interno:

$$C = r \cdot \frac{C_{IS} \cdot DF}{S} \quad 3.6$$

Em que:

C = Concentração elementar obtida (mg/kg);

C_{IS} = Concentração do padrão interno (mg/kg);

r = relação de intensidade entre o elemento analisado e o padrão interno;

S = Sensibilidade elementar (instrumental);

DF = Fator de diluição.

A relação de intensidade entre o elemento analisado e o padrão interno é dado conforme Equação 3.7:

$$r = \frac{N_E}{N_{IS}} \cdot \delta_{Instr} \cdot \delta_{Dep} \quad 3.7$$

Em que:

r = Relação entre o número de contagens elementar (analisado) e do padrão interno utilizado;

N_E = Número de contagens relativas ao elemento E;

N_{IS} = Número de contagens relativas ao padrão interno;

δ_{Instr} = Fator multiplicativo referente a repetibilidade instrumental com valor unitário;

δ_{Dep} = Fator multiplicativo referente a repetibilidade deposicional com valor unitário.

O DF se refere ao fator diluição do padrão interno com relação à amostra analisada e pode ser calculado pela relação contida na Equação 3.8:

$$DF = \left(\frac{m_{smp} + m_{IS}}{m_{smp}} \right) \quad 3.8$$

Em que:

m_{smp} = Massa do analito (kg);

m_{IS} = Massa do padrão interno (kg).

As considerações matemáticas contidas nas equações aqui descritas conferem maior confiabilidade nos resultados das análises obtidas. É possível ainda o cálculo das incertezas a partir do desvio-padrão e diversos outros métodos de estimativas (TAYLOR & KUYATT, 1994; DOQ, 2011; FLOOR *et al.*, 2015). Boa parte dos cálculos matemáticos preliminares foram feitos pelo *software* SPECTRA7™ que acompanha o equipamento S2 PICOFOX™ da marca Bruker.

Na parte referente a aplicação da técnica ao sedimento do córrego bezerra, é utilizada estatística multivariada de análise no tratamento dos dados gerados. Nesse caso em particular, é utilizada a análise fatorial (FA) combinada com análise de componentes principais (PCA). O conceito de fatores está associado à medição

do grau de correlação entre as originais, gerando cargas fatoriais. Estes contém, dessa forma, não apenas a informação relativa a uma variável em particular, mas a estimativa desta com as outras variáveis, como uma combinação linear. Para uma análise eficiente ainda é necessário a identificação de possíveis *outliers* nos dados, ou seja, valores tendenciosos que afetam os resultados (HAIR *et al.*, 2006; CORRAR *et al.*, 2009; BRO & SMILDE, 2014) através do teste de normalidade.

3.5.2 Métodos e técnicas computacionais para análise

Para análise estatística dos dados foram usados como testes estatísticos a análise de variância (ANOVA) para verificação da variância dos resultados gerados, Shapiro-Wilk para teste de normalidade dos dados brutos, e as técnicas multivariadas de análise dos dados, de uso corrente na literatura na avaliação de correlação entre as concentrações elementares em amostras sólidas (WIECHULA, *et al.*, 2006; PAULETTE, *et al.*, 2015).

Boa parte dos cálculos preliminares são realizados pelo *software* SPECTRA7™, como a concentração elementar, contagens, desvio-padrão por leitura, etc. Os dados iniciais obtidos para os MRC's foram tratados no Excel® e no Origin®. Os testes de normalidade pelo método de Shapiro-Wilk como os histogramas, a ANOVA com a estatística descritiva preliminar e a análise multivariada do sedimento foram procedimentos realizados utilizando o *software*, Statistica® Inc.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Materiais de Referência certificados (MRC's)

A primeira etapa deste estudo objetivou a avaliação de uma metodologia generalista em espectroscopia de fluorescência total de raios X na caracterização de particulados sólidos. Durante a avaliação do procedimento, foram utilizados padrões sólidos de referência e certificados, sendo estes possuidores de características divergentes entre si, para atingir o fim generalista objetivado, e conseqüente aplicabilidade da técnica. Nesse sentido, existiu a necessidade de métodos específicos para o tratamento de amostras no prosseguimento das análises, para evitar erros no procedimento, e conferir acurácia e precisão nos resultados obtidos (KARJOU, 2007). As Tabelas ao longo do presente tópico, ilustram os resultados referentes às concentrações elementares obtidas a partir das leituras de 6 padrões certificados sólidos utilizando a metodologia aferida sendo que réplicas foram necessárias à avaliação da mesma, a partir da técnica de TXRF. A estratégia abordada na realização dos procedimentos analíticos e espectrométricos consistiu na utilização de quintuplicatas analíticas e quintuplicatas ou triplicatas experimentais e averiguação do desvio-padrão entre as réplicas. Fato que possibilitou a verificação da precisão e conseqüentemente da reprodutibilidade da metodologia de análise desenvolvida; e a comparação dos valores obtidos em relação àqueles descritos no certificado oficial de cada material certificado, o que infere confiabilidade na parte da acurácia analítica (TAYLOR & KUYATT, 1994).

A segunda etapa do estudo referiu-se à aplicação da metodologia avaliada previamente na primeira parte do estudo, ao sedimento do córrego Bezerra. Foi utilizada metodologia similar ao avaliado com o padrão sólido certificado MRC 8704, uma vez que esta é uma matriz similar. Foram realizados procedimentos adicionais com relação ao preparo dessa amostra, como coleta periódica do material sólido no leito do córrego, secagem do sedimento em estufa, moagem do particulado, nova secagem pós moagem e armazenamento. Em relação à avaliação dos dados experimentais obtidos, foi realizada ANOVA para descrição da estatística básica, e posteriormente, utilizados métodos da estatística multivariada PCA com FA, e Coeficiente de correlação de Spearman com 95% de confiança

para atingir o fim da caracterização do sedimento e consequente avaliação de amostra ambiental à luz dos dados experimentais.

Foi realizado previamente uma avaliação do controle de qualidade equipamentos utilizados. Para o S2 PICOFOX™ foi feito a verificação da acurácia, constatando-se que os valores medidos estavam dentro da faixa de variação permitida pelo fabricante (menos de 10% de variação nos valores de concentração quantificada utilizando os discos de teste Kraft). A perda de sensibilidade esteve abaixo da faixa máxima recomendada (de 20%), e a correção de ganho manteve-se dentro da faixa de confiabilidade do equipamento. Estando nas condições instrumentais ideais, pode-se atenuar os desvios nos valores esperados a partir das leituras realizadas.

4.1.1 Sedimento de rio (*Buffalo River 8704*)

O material certificado de sedimento do rio Buffalo (MRC 8704), por ser um material de alta densidade, apresentou sedimentação rápida em tubo criogênico. Esse é um detalhe importante a levar-se em conta na análise desse tipo de material, sendo necessário depositar rapidamente a amostra no disco depois da preparação e agitação da amostra em tubo criogênico. Para atenuação do problema, seguiu-se procedimento envolvendo a aplicação da amostra ao ultrassom por 30 minutos em todas as réplicas do material, tomando-se como base procedimentos similares descritos na literatura (ÁLVAREZ-VÁZQUEZ *et al.*, 2014; DE LA CALLE *et al.*, 2013b) com a finalidade de homogeneizar a amostra em solução.

Em TXRF os valores obtidos para concentração elementar estão diretamente ligados ao número de camadas atômicas do elemento químico, e consequentemente às transições particulares de cada átomo. Átomos leves são mensurados utilizando as linhas $K\alpha$, enquanto que os elementos mais pesados são quantificados por linhas $L\alpha$. Como a energia emitida pela fonte de radiação é fixa e penetra menos em elementos com muitas camadas eletrônicas, não é possível a geração de transições do tipo $K\alpha$ neste caso. No espectro contido na Figura 4.1 é possível notar que a região de 0 a 5 keV possui grande quantidade de linhas espectrais. Isso se deve ao fato de que as linhas $K\alpha$ dos elementos mais leves possuem energia próxima às linhas $L\alpha$ dos elementos mais pesados. Isso explica

alguns desvios reais encontrados nos valores de concentração medidos para elementos como por exemplo magnésio, alumínio, enxofre, alumínio, fósforo e potássio.



Figura 4.1 – Espectro de TXRF para amostra de sedimento de rio (MRC 8704).

No espectro típico de um TXRF S2 PICOFOX™ com tubo de molibdênio, é possível notar que existem 3 picos comuns a todos aqueles: do próprio molibdênio, que está contido no tubo pelo qual passam os raios X; de silício, do qual é constituído o detector; de argônio, que está presente no ar. Também haverá nos espectros, o pico do padrão interno que neste caso foi de selênio. Seguindo-se a presente metodologia, foi possível entretanto, a identificação de uma vasta gama de elementos químicos, conforme Figura 4.1. As quantificações com menores erros e desvio-padrão e com valores de recuperação mais próximos dos reais certificados ocorreu na faixa central do espectro de raios X, com energia entre 5-15 keV. Essa região espectral apresenta elementos com número atômico altos suficientemente para atenuação do efeito Auger, por exemplo e menor densidade de linhas quantificáveis, ou seja com menores quantidades de interferentes espectrais (elementos com energias de transição próximas).

Foram recuperados com maior acurácia e precisão os elementos metálicos, uma vez que estes possuem menores limites de detecção e pouca influência de efeitos como a ejeção de elétron Auger, concorrente com o efeito fotoelétrico gerado como resposta. Desse modo, a recuperação dos valores certificados com relação aos obtidos estiveram na faixa de 87% a 125% para os elementos com

concentração na faixa de mg/kg, e entre 90% a 104% para elementos metálicos na faixa de porcentagem, como por exemplo, os elementos ferro, potássio, cálcio e titânio. A exceção importante é o alumínio (com recuperação média de 71%), juntamente com magnésio e sódio (apenas identificados na amostra), que devido ao baixo número atômico, há efeito Auger significativo e sobreposição da linhas K α desses elementos, com as linhas L α dos elementos mais pesados. Com essa metodologia de análise, os erros percentuais médios dos elementos pesados quantificados estiveram na faixa de 5%, aumentando até 10% conforme a diminuição na concentração dos elementos leves presentes na amostra. Na Tabela 4.1 são elencadas as médias dos valores calculados entre as réplicas, desvio-padrão e recuperação em porcentagem dos valores esperados conforme certificado oficial do produto (NIST, 2000 ou Anexo A).

Tabela 4.1 – Valores de Referência pelo certificado oficial Buffalo River (MRC 8704) *versus* média experimental obtida, com os parâmetros estatísticos da análise realizada

| Elemento | Valores de Referência (mg/kg) | Valores medidos por TXRF (N=25) | Recuperação % |
|-----------------|--------------------------------------|--|----------------------|
| Fe | 39700 ± 1000 | 40180 ± 2520 | 101 ± 7 |
| Ca | 26400 ± 800 | 24060 ± 1510 | 91 ± 7 |
| K | 20000 ± 410 | 18020 ± 420 | 90 ± 3 |
| Ti | 4570 ± 200 | 4410 ± 350 | 96 ± 9 |
| Mn | 544 ± 21 | 543 ± 26 | 99 ± 6 |
| Ba | 413 ± 13 | 430,5 ± 38 | 104 ± 7 |
| Zn | 408 ± 15 | 424 ± 28 | 104 ± 7 |
| Pb | 150 ± 17 | 188 ± 7 | 125 ± 12 |
| Cr | 122 ± 4 | 121,5 ± 6 | 99 ± 6 |
| Al | 61000 ± 1800 | 43100 ± 2300 | 71 ± 6 |
| Ni | 42,9 ± 4 | 41,2 ± 4 | 96 ± 12 |
| Ce | 66,5 ± 2 | 57,6 ± 2 | 87 ± 5 |

Foram quantificados com boa precisão (menos de 10% de variação na recuperação e baixo erro percentual) 10 elementos químicos diferentes. O cério com 87% de recuperação, possui na amostra, concentração muito abaixo do padrão interno de Se (cerca de 350 mg/kg) e dos maioritários na amostra, como ferro, cálcio e potássio, fato que ocasiona desvio nos valores em relação à referência. No caso do chumbo, o fato deste encontra-se na mesma faixa espectral do As (presente na amostra) influenciou no resultado, justificando o valor de 125% de recuperação. Para o MRC 8704, os elementos identificados foram correlacionados

com os valores médios dos limites de detecção, sendo estes proporcionais a capacidade de quantificação elementar do equipamento. Alguns elementos químicos estão presentes no certificado do material analisado e ausentes na Tabela 4.1 por estarem a baixas concentrações na amostra, sendo o sinal emitido confundido com *background* espectral; baixo número atômico (efeito Auger); por que são realizadas análises utilizando várias técnicas na quantificação de um MRC. A Figura 4.2 ilustra o gráfico da correlação entre os valores dos limites de detecção médios quantificados nas leituras em relação ao número atômico dos elementos identificados nas análises. É importante notar que o limite de detecção decresce com o aumento do número atômico para a série K, ocorrendo processo similar aos elementos quantificados pela série L.

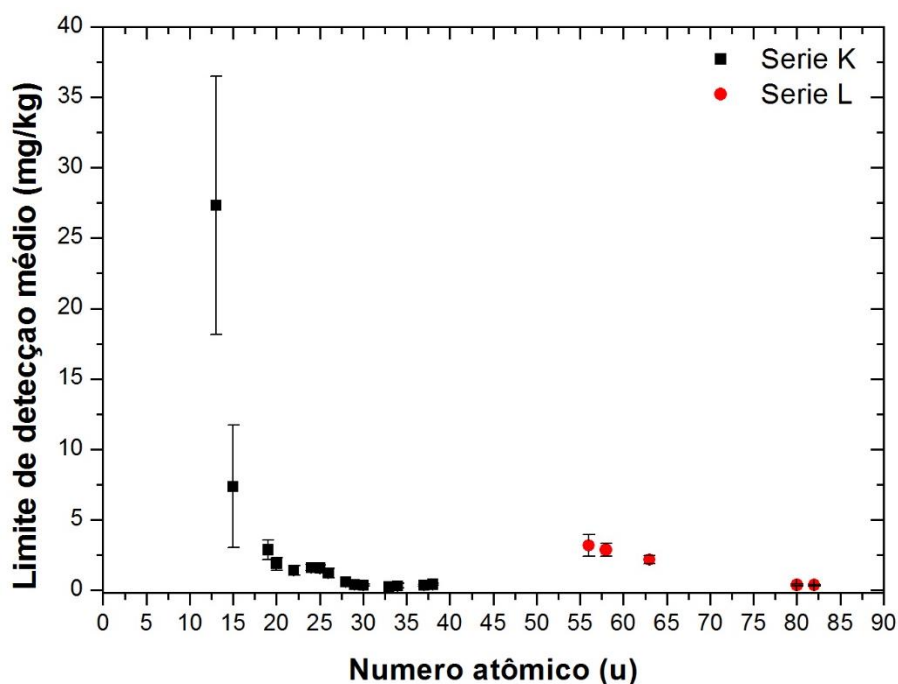


Figura 4.2 - Limite de detecção (em mg/kg) médio dos elementos mensurados A partir da análise de TXRF versus número atômico.

Os valores encontrados para os elementos elencados na Tabela 4.1 atendem estatisticamente aos parâmetros avaliativos estabelecidos pelo INMETRO (DOQ, 2011) em relação à faixa de recuperação de valores elementares em relação ao certificado oficial do produto contido no Anexo A. Sendo assim, foi possível a avaliação do procedimento de análise de particulados sólidos para fixar o procedimento de caracterização de amostras reais, o que é explicitado no tópico referente à aplicação da técnica.

4.1.2 Fígado Bovino (*Bovine Liver 1577c*)

O padrão certificado contendo Fígado bovino (MRC 1577c) possui características distintas com relação ao padrão sedimentoso, avaliado anteriormente. É perceptível que os padrões de origem inorgânica como por exemplo MRC 8704, possuem o limite de detecção dos elementos constituintes, maiores em relação a materiais de origem orgânica. Isso se deve em parte pelo menor *background* em matrizes orgânica, sendo que o limite de detecção para um dado elemento baseia-se nesse “fundo espectral”. Também há menor densidade deste último, gerando facilidades analíticas como a lenta decantação da amostra em solução, baixo efeito deposicional e melhor homogeneidade. Para o caso de MRC 1577c, também existiram particularidades de ordem analítica. Como o mesmo não pôde ser seco, as partículas constituintes poderiam se compactar mais facilmente. Para atenuação desse tipo de dificuldade foi utilizado o Ultrassom, a fim de dispersar melhor as partículas em solução e manter a homogeneidade requerida (DE LA CALLE *et al.*, 2012). Apesar de algumas limitações amostrais naturais, foi possível a identificação de elementos voláteis por exemplo, de difícil mensuração e que poderiam se perder em processo de digestão, comumente utilizadas em técnicas instrumentais.

Como o presente material possuía uma pequena quantidade de Se em sua composição, optou-se por utilizar o elemento Ga como padrão interno (Figura 4.3). Também é possível notar no espectro menores *background* e concentração dos elementos presentes na amostra.



Figura 4.3 - Espectro de TXRF para amostra de Fígado bovino (MRC 1577c).

As recuperações elementares obtidas a partir das leituras desse padrão estiveram na faixa de 90% a 118% para a maioria dos elementos detectados, dependendo do número atômico, concentração amostral, dentre outros fatores. Foram realizadas 15 réplicas, número mínimo recomendado de repetições sob mesmas condições pré-definidas para verificação da precisão entre os ensaios (DOQ, 2011), e o erro relativo entre as repetições esteve na faixa de 5% a 10% para os elementos elencados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Valores de referência pelo certificado oficial Bovine Liver (MRC 1577c) versus média experimental obtida, com os parâmetros estatísticos da análise realizada

| Elemento | Valores de Referência (mg/kg) | Valores medidos por TXRF (N=15) | Recuperação % |
|----------|-------------------------------|---------------------------------|---------------|
| P | 11750 ± 270 | 11479 ± 902 | 98 ± 8 |
| K | 10230 ± 640 | 12055 ± 571 | 118 ± 8 |
| Cl* | 2870 ± 130 | 3132 ± 387 | 109 ± 13 |
| Fe | 198 ± 0,6 | 199 ± 20 | 101 ± 10 |
| Zn | 181 ± 1 | 172 ± 22 | 95 ± 13 |
| Ca | 131 ± 10 | 151 ± 7 | 116 ± 9 |

*Valor não certificado pela referência (NIST, 2009).

Os resultados obtidos a partir das leituras desse padrão enfatizam a vantagem da não digestão da amostra. O processo de digestão da amostra é potencialmente responsável pela modificação da matriz, perda de elementos voláteis, possibilidade de contaminação oriunda do reagente utilizado, maior tempo para realização do procedimento, etc. O elemento cloro que possui maior incerteza associada entre os quantificados e não se apresentava como um valor certificado

pelo Anexo B (NIST, 2009), apresentou recuperação próxima da faixa esperada e erro relativamente baixo entre as réplicas. Tal fato sugere que existe a possibilidade de boa recuperação na concentração de elementos voláteis, com erros consideravelmente baixos, o que ocorre para outros padrões descritos sequencialmente. O destaque foi o fósforo, que apesar da limitação quantitativa da técnica em relação àquele, teve recuperação de 98%, a exemplo do elemento potássio, com 118% e baixo desvio-padrão.

4.1.3 Farinha de Ossos (*Bone Meal 1486*)

O material sólido certificado constituído de uma farinha de ossos conforme NIST (1992) ou Anexo C, possui poucos elementos em sua composição em relação aos demais padrões. Este apresentou, em relação aos outros materiais analisados, maiores desvios e dificuldades de ordem analítica e instrumentais. Esses problemas foram corrigidos com testes adicionais em relação ao que foi realizado com os outros materiais. Primeiramente foram realizadas tentativas com moagem e sem secagem da amostra, sendo que os valores em triplicatas, estiveram distantes do valor real. Ainda com intuito de otimizar os resultados, foram adotados procedimentos de aumento da massa amostral (rápida decantação), e posteriormente a utilização do padrão interno de Ga, uma vez que existia pequena quantidade de Se na amostra. Todas as tentativas descritas até esse ponto conferiram erros percentuais acima de 20% e recuperação com desvios da ordem de 40% a 50%. Desse modo, o procedimento padrão, que apresentou os menores erros, desvio-padrão e maior recuperação envolveu além da moagem, a secagem da amostra em estufa a 105°C por 2 horas, utilização de Ga como padrão interno.

A Figura 4.4 ilustra um espectro da amostra de farinha de ossos. É possível notar a pequena quantidade de picos presentes. Pode-se notar ainda que existe grande diferença na concentração dos elementos maioritários em relação aos minoritários, o que se confirma pelos dados gerados e explicitados na Tabela 4.3. Tal diferença não permite que seja realizada uma quantificação precisa de todos os elementos presentes na amostra utilizando a mesma faixa de concentração do padrão interno (cerca de 350 mg/kg). Dessa forma, a presente análise teve caráter

exploratório e com intuito de identificação, dado ainda a noção de alteração da matriz ao longo dos anos, sendo este o padrão mais antigo dentre os utilizados.

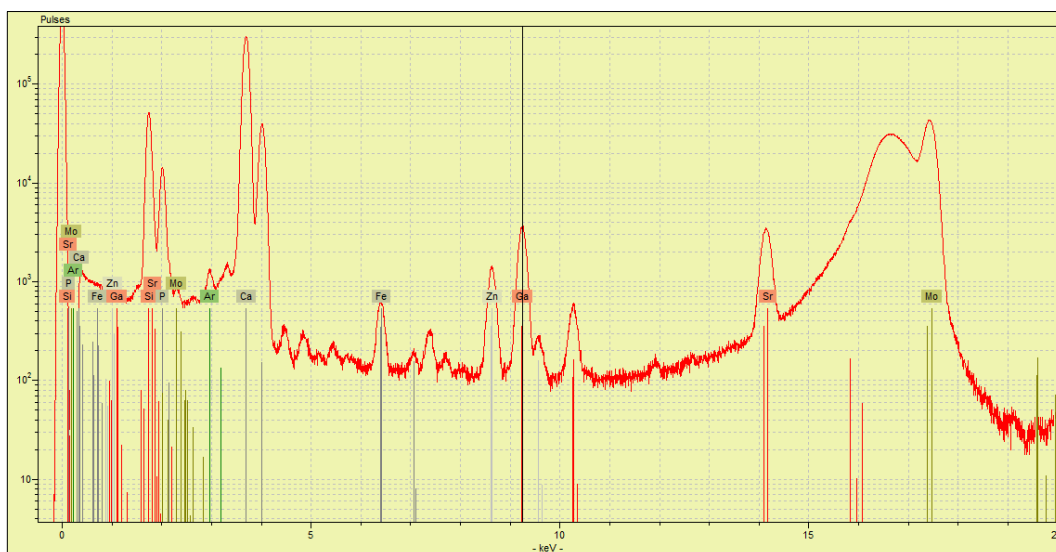


Figura 4.4 - Espectro de TXRF para amostra de Farinha de ossos (MRC 1486).

A Tabela 4.3 seguinte ilustra os elementos certificados e determinados pelo NIST (1992) em comparação com as médias dos valores obtidos com a realização de 15 réplicas. Procedimentos envolvendo MRC 1486 podem ser utilizados na calibração de equipamentos e posterior de ossos humanos, tanto no campo forense quanto em análises de cunho biomédico.

Tabela 4.3 - Valores de referência pelo certificado oficial Bone Meal (MRC 1486) versus média experimental obtida, com os parâmetros estatísticos da análise realizada

| Elemento | Valores de Referência (mg/kg) | Valores medidos por TXRF (N=15) | Recuperação % |
|----------|-------------------------------|---------------------------------|---------------|
| Ca | 265800 ± 2400 | 225670 ± 6223 | 85 ± 27 |
| P | 123000 ± 1900 | 102770 ± 2720 | 84 ± 26 |
| Sr | 264 ± 7 | 277 ± 77 | 105 ± 28 |
| Zn | 147 ± 16 | 146 ± 51 | 99 ± 36 |
| Fe | 99 ± 8 | 98 ± 7 | 98 ± 11 |

WIECHULA *et al.*, (2008) nesse sentido, avaliou a concentração de metais pesados em ossos humanos e discutiu o aumento na concentração destes no organismo ao longo do tempo. Também foram realizadas medidas envolvendo este padrão elementar, sendo que os autores conseguiram recuperação variante de 95-110% e erro relativo na faixa de até 5% para 5 elementos químicos certificados que foram descritos, utilizando-se a técnica AAS. Nas presentes análises realizadas,

foram determinados simultaneamente as concentrações de 5 elementos químicos, com recuperação na faixa de 84-105%. A vantagem da análise de TXRF em procedimentos similares é a rapidez nas análises e capacidade de determinação simultânea de uma vasta gama de elementos, o que é requerido em análises forenses, por exemplo.

4.1.4 Músculo de Peixe Cação (*Dogfish Muscle*)

Como a concentração dos elementos químicos presentes nessa matriz são sensivelmente menores em relação aos materiais quantificados anteriormente (Anexo D), optou-se por utilizar metade da concentração de padrão interno (Anexo D), optou-se por utilizar metade da concentração de padrão interno (aproximadamente 175 mg/kg, enquanto nas outras análises, cerca de 350 mg/kg). Também foi alterado no presente caso, o padrão interno, sendo utilizado Ga. Uma vez que a presente amostra possui Se em concentração quantificável, não é recomendável a utilização deste como padrão interno, por aumentar a incerteza nos cálculos de concentração. Adicionalmente objetivou-se a quantificação desse elemento na amostra apesar da baixa concentração em que se encontra.

Como essa matriz constitui-se basicamente de material cárneo, o tratamento analítico foi semelhante ao realizado com MRC 1577c, sendo submetido aos mesmos procedimentos analíticos.

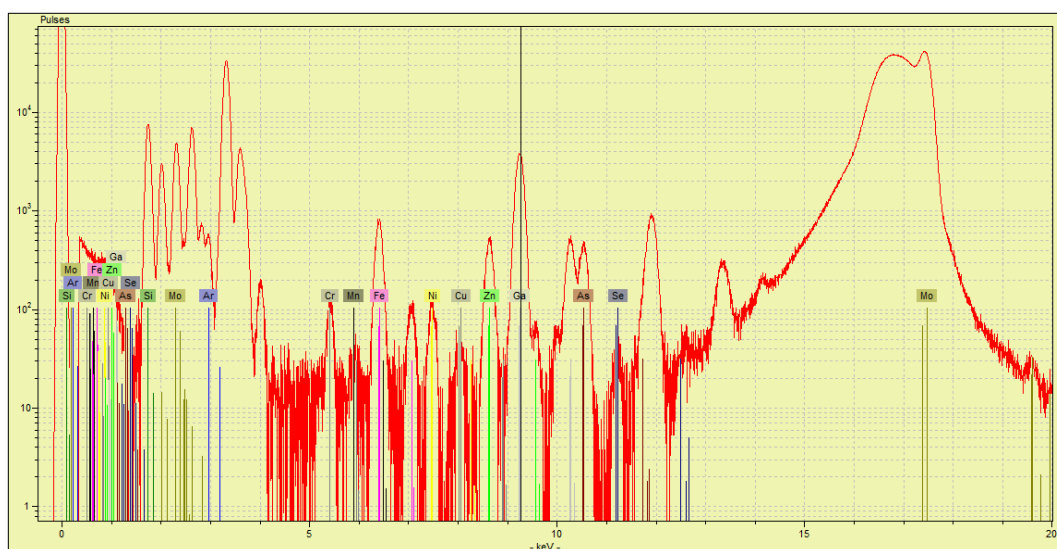


Figura 4.5 - Espectro de TXRF para amostra de Músculo de Peixe Cação (*Dogfish Muscle*).

A matriz constituída de músculo de Peixe Cação é o único dos materiais de referência que possui certificação de origem diferente dos demais, sendo este oriundo do *National Research Council* (NRC) no Canadá, enquanto os demais possuem procedência do *National institute of standards & technology* (NIST). No certificado oficial do produto não consta detalhes sobre a granulometria, foi necessário então, o teste deste parâmetro. Posteriormente foi realizada a moagem e secagem da amostra. Os valores de recuperação obtidos são apresentados na Tabela 4.4:

Tabela 4.4 - Valores de referência pelo certificado oficial Dogfish Muscle *versus* média experimental obtida, com os parâmetros estatístico da análise realizada

| Elemento | Valores de Referência (mg/kg) | Valores medidos por TXRF (N=15) | Recuperação % |
|-----------------|--------------------------------------|--|----------------------|
| Fe | 142 ± 10 | 132 ± 9 | 93 ± 10 |
| Cr | 34,7 ± 5 | 33,3 ± 6,5 | 96 ± 25 |
| Zn | 25,5 ± 2 | 23,3 ± 2 | 92 ± 13 |
| Ni | 19,2 ± 3 | 13,5 ± 2 | 70 ± 22 |
| As | 18,0 ± 1 | 15,5 ± 0,2 | 86 ± 6 |
| Cu | 2,34 ± 0,1 | 2,68 ± 0,2 | 114 ± 10 |
| Mn | 3,66 ± 0,3 | 3,75 ± 0,3 | 102 ± 12 |
| Se | 1,4 ± 0,1 | 1,47 ± 0,2 | 105 ± 15 |

A menor recuperação encontrada foi do elemento Ni, com 70%. Os demais elementos obtiveram recuperação média variável entre 86-114% e apesar da concentração de todos os elementos estar na faixa de poucos mg/kg, que fez com que o erro relativo entre as réplicas estivesse na ordem de 1-10% para maioria dos elementos, convém ressaltar que em faixas menores de concentração o efeito do *Background* é maior, ocasionando desvios e que os resultados obtidos estão condizentes em relação a análises de cunho biológico conforme apresentado pela empresa fabricante do equipamento, exemplificado em HENDERSON & BEAUCHAINE (2013). Os resultados foram condizentes com o esperado, sendo possível quantificação de selênio e arsênio apesar de voláteis e de demais elementos, mesmo em faixa abaixo de 100 mg/kg.

4.1.5 Farinha de Arroz (*Rice Flour 1568a*)

Com o particulado MRC 1568a ou farinha de arroz não houve problemas significativos com a parte envolvendo formação de agregados ou com perdas significativas com tratamento prévio da amostra. Como teste foi variado a massa de amostra, sendo que para valores maiores houve perda de informação e, conseqüentemente, redução da recuperação. Já para valores menores que o usual houve perda na sensibilidade para determinação de alguns elementos. Variou-se ainda a secagem da amostra e a utilização do padrão interno de Ga, sendo que em ambos os casos os resultados não foram satisfatórios. As condições fixadas como ótimas para a análise foram semelhantes aos procedimentos com os padrões discutidos anteriormente, utilizando-se Se como padrão interno. A Figura 4.7 ilustra um espectro típico obtido com a análise desse material, enquanto a Tabela 4.5 elenca os elementos químicos presentes no MRC 1568a tiveram recuperação dentro da faixa próxima a 100% para os principais constituintes quantificáveis:

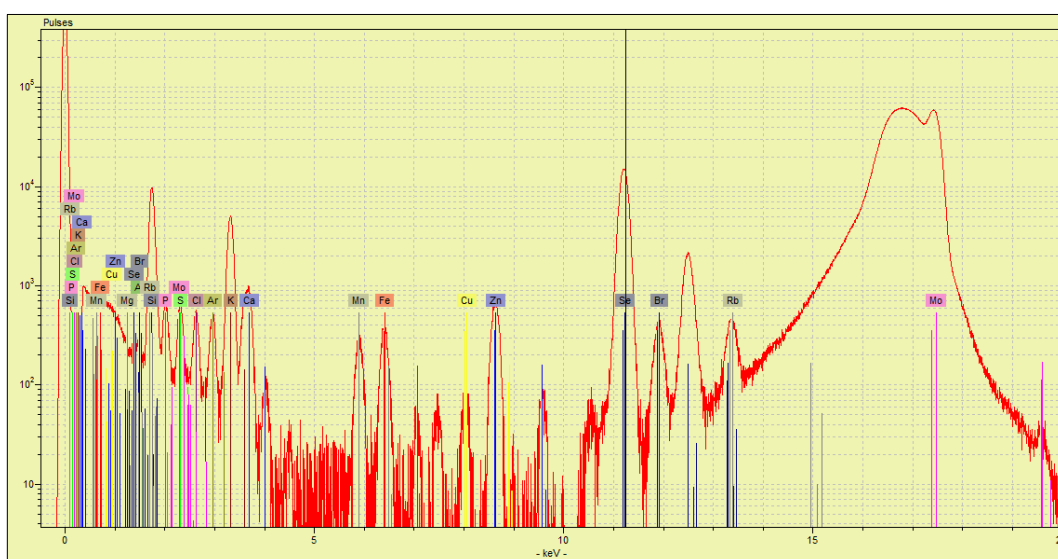


Figura 4.6 - Espectro de TXRF para amostra de Farinha de arroz (MRC 1568a).

A recuperação do elemento K é afetada naturalmente devido à influência do efeito Auger. Entretanto, como as concentrações dos demais elementos são consideravelmente baixas, houve bons resultados quantitativos. Para os demais elementos, a baixa concentração fez com que a recuperação fosse sensivelmente prejudicada.

Tabela 4.5 - Valores de referência pelo certificado oficial Rice Flour (1568a) versus média experimental obtida, com os parâmetros estatístico da análise realizada

| Elemento | Valores de Referência (mg/kg) | Valores medidos por TXRF (N=15) | Recuperação % |
|----------|-------------------------------|---------------------------------|---------------|
| K | 1280 ± 8 | 1159 ± 33 | 90 ± 3 |
| Cl* | 300 | 220 ± 7 | 73 ± 4 |
| Ca | 118 ± 6 | 122 ± 6 | 104 ± 7 |
| Mn | 20 ± 1,6 | 22 ± 1,2 | 109 ± 10 |
| Zn | 19,4 ± 0,5 | 17,3 ± 0,6 | 89 ± 4 |
| Rb | 6,14 ± 0,1 | 4,80 ± 0,3 | 78 ± 7 |
| Br* | 8 | 7 ± 0,3 | 87 ± 5 |
| Cu | 2,4 ± 0,3 | 3,0 ± 0,2 | 123 ± 15 |

*Valores não certificados pela referência (NIST, 1995a).

Foi possível ainda a determinação de elementos que possuem naturalmente alta incerteza associada em quantificações espectrométricas, como os halogênios Cl e Br. Houve a quantificação de elementos metálicos com baixa concentração como Mn, Zn, Rb, e Cu. O erro relativo entre as réplicas esteve na faixa de 3-8% e a propagação de erros gerou valores da ordem de 3-15% na recuperação.

4.1.6 Folha de Tomate (*Tomato Leaves 1573a*)

O material constituído por folhas de tomate, ou MRC 1573a, possui matriz semelhante ao MRC 1568a, sendo que no caso presente os resultados analíticos foram sensivelmente melhores. Em relação à identificação e quantificação de elementos químicos descritos no certificado oficial, uma vez que neste os elementos químicos constituintes estão distribuídos em maior concentração. Foram menores os erros, maior a quantidade de elementos quantificados e a recuperação foi mais próxima dos valores de referência. Seguiram-se, experimentalmente, os mesmos passos para ambos os padrões certificados. A Figura 4.8 ilustra o espectro XRF obtido com a leitura do MRC 1573a.

A granulometria inicial do produto não se encontrava na faixa necessária para preparação da amostra, sendo assim optou-se por moagem seguida de secagem da amostra antes do prosseguimento analítico. A secagem foi a baixa temperatura (60°C, 24 horas), pois havia interesse na quantificação dos elementos químicos voláteis e os não certificados pelo NIST, fato que foi evidenciado na prática. Os limites de detecção alcançados foram menores em relação a este último

e apresentaram-se de modo menos influente nos resultados finais, uma vez que a concentração média dos elementos presentes nesse material estão em faixa próxima da concentração do padrão interno. Na Tabela 4.6 estão elencados o resultado experimental obtido a partir das leituras.

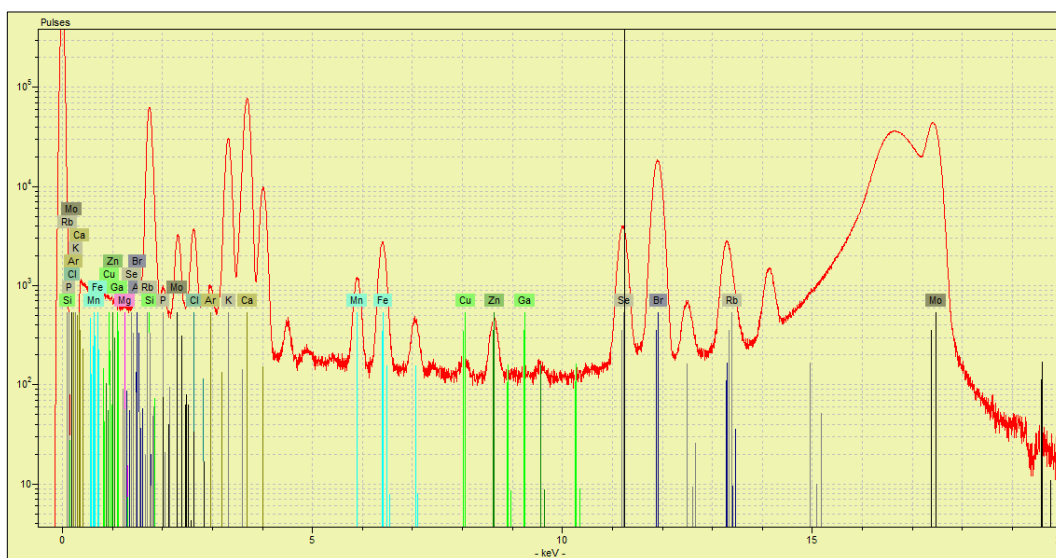


Figura 4.7 - Espectro de TXRF para amostra de Folha de tomate (MRC 1573a).

Tabela 4.6 - Valores de referência pelo certificado oficial Tomato Leaves (1573a) versus média experimental obtida, com os parâmetros estatístico da análise realizada

| Elemento | Valores de Referência (mg/kg) | Valores medidos por TXRF (N=15) | Recuperação % |
|----------|-------------------------------|---------------------------------|---------------|
| Ca | 50500 ± 900 | 47925 ± 1710 | 95 ± 4 |
| K | 27000 ± 500 | 29325 ± 340 | 108 ± 2 |
| S* | 9600 | 9468 ± 155 | 99 ± 2 |
| Cl* | 6600 | 6606 ± 214 | 100 ± 3 |
| P | 2160 ± 40 | 2341 ± 61 | 108 ± 3 |
| Br* | 1300 | 1378 ± 53 | 106 ± 4 |
| Sr* | 85 | 88,5 ± 3 | 104 ± 3 |
| Fe | 368 ± 7 | 439 ± 30 | 119 ± 7 |
| Mn | 246 ± 8 | 254 ± 7,5 | 103 ± 4 |
| Zn | 30,9 ± 0,7 | 37,0 ± 1,2 | 120 ± 4 |

*Valores não certificados pela referência (NIST, 1995b).

O erro relativo entre as réplicas esteve entre 1-7%, a propagação dos erros gerou valores na ordem de 2-7%, e a recuperação dos elementos averiguados esteve próxima a 100%, com exceção de Fe e Zn, que tiveram desvios ligeiramente maiores. Houve a quantificação com boa margem de precisão para elementos em que a referência não certificou a concentração, como S, Cl, Br e Sr. Os maioritários Ca e K da amostra obtiveram recuperação próxima do valor esperado. Com as 15

réplicas realizadas, notou-se que todos os valores obtidos estiveram próximos entre si, evidenciando a possibilidade de utilização desse padrão na aplicação da técnica TXRF para análise de plantas.

4.1.7 Conclusões referentes à aplicabilidade

Os padrões de origem inorgânica como por exemplo MRC 8704, possuem o limite de detecção médio dos elementos constituintes maiores em relação aos materiais de origem orgânica/biológica. Isso se deve em parte pelo menor *background* gerado por espectros de matrizes de origem orgânica, sendo que o limite de detecção para um dado elemento baseia-se nesse “fundo espectral”. Outro fato importante de mencionar é que em TXRF, quanto menor for a quantidade de analito (concentração do elemento E_i na amostra), mais difícil se torna diferenciar o pico das flutuações do próprio fundo. Isto explica alguns dos desvios em relação aos valores de referência prescritos na literatura.

A Figura 4.8 ilustra a diferença entre os limites de detecção obtidos para os mesmos elementos nas matrizes de sedimento de rio (*Buffalo River 8704*, natureza inorgânica) e músculo de Peixe Cação (*Dogfish Muscle*, matriz orgânica). É ainda importante notar que em análises de amostras líquidas, por exemplo, o *background* é sensivelmente menor, o que possibilita menores limites de detecção e maior capacidade de quantificação desse tipo de amostras. Isto ocorre por causa do tamanho de partículas menores em análises de líquidos, permitindo maior eficiência do processo de irradiação. Entretanto, a metodologia de análise por TXRF aplicada à análise de sólidos mostrou-se precisa para uma vasta gama de elementos químicos e viável em procedimentos rotineiros. Também foi possível a quantificação/recuperação de vários elementos voláteis, tais como Cl, Br, As, Se. Por ser uma técnica não-destrutiva (não foi realizada digestão preliminar de nenhuma das matrizes MRC), não houve perdas significativas de analito ou erros de diluição associados.

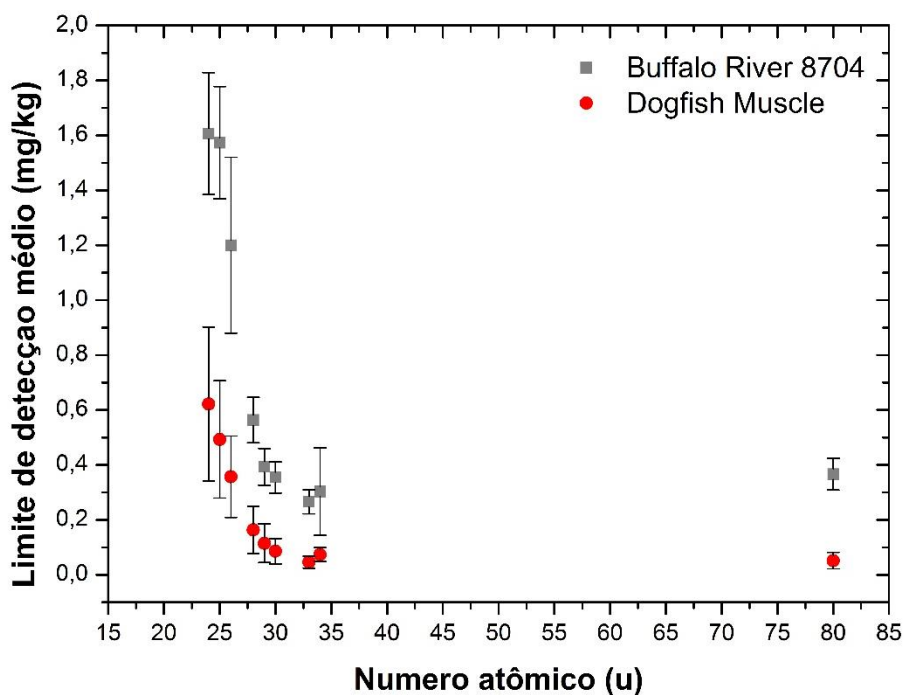


Figura 4.8 – Comparação entre valores do limite de detecção médio para as matrizes De sedimento de rio (inorgânico) e músculo de Peixe Cação (orgânico).

Foram feitos testes envolvendo aumento da massa utilizada, sendo que esta mostrou-se altamente ineficaz, pela decantação de particulado sólido em solução. Já a influência da secagem é um recurso que deve ser tomado com cautela, pois se for utilizada temperatura demasiadamente alta haverá perdas devido a esse recurso. A variação da concentração do padrão interno é também interessante. Quando o interesse do estudo são os elementos majoritários na amostra, estando esses em grande concentração, é interessante utilizar uma concentração maior de padrão interno compatível com as concentrações dos elementos mensuráveis. Se o foco da avaliação for os elementos minoritários, na ordem de poucos mg/kg, é recomendável utilizar concentração menor do padrão interno na solução, também com concentração similar àqueles. Não é analiticamente interessante entretanto diminuir muito a concentração de padrão interno, pois isto aumenta a incerteza associada às medidas. É ainda importante o conhecimento prévio das condições da amostra, bem como dos possíveis elementos constituintes desta, conforme relatado na literatura (SKOOG *et al.*, 2005). Obtendo-se os dados referentes à amostra passível de análise em TXRF, convém não utilizar padrão interno de elemento que esteja contido na mesma, pois isso também acarretaria um aumento da incerteza nas medidas realizadas.

4.2 Análise de sedimento do córrego Bezerra

4.2.1 Característica dos pontos de coleta

A aplicação da técnica espectrométrica TXRF foi adicionada na justificativa de desenvolvimento e aferição da mesma. Foram definidos 3 pontos de coleta de amostras retiradas do córrego Bezerra, no perímetro urbano da cidade de Cascavel, Paraná. As coletas foram realizadas trimestralmente entre março de 2012 à dezembro de 2014. Ao longo dos 3 anos, foram coletadas amostras de sedimentos nos 3 pontos prescritos conforme metodologia, totalizando 12 coletas e concomitantemente 36 amostras consideradas no tratamento dos dados. O estudo foi realizado em triplicatas para cada amostra.

4.2.2 Análises estatísticas realizadas

Foram calculadas médias entre as 3 réplicas amostrais geradas a partir das leituras. A Figura 4.9 ilustra o espectro típico para as leituras realizadas. Nota-se a semelhança entre este e o espectro de MRC 8704, apesar das diferentes concentrações elementares entre este e aquele. Foi utilizado como padrão interno Se. Os valores médios gerais das análises contendo a concentração médias ao longo dos pontos, os valores máximos e mínimos, variância e desvio-padrão são apresentados na Tabela 4.7. As coletas nesta foram distribuídas trimestralmente de C1 (março/2012) à C12 (dezembro/2014). Os resultados das análises realizadas com a média das concentrações para cada elemento químico bem como o desvio-padrão são apresentados conforme Tabela 4.8. Os elementos majoritários Fe, Al e Ti são mostrados em porcentagem, enquanto os demais na ordem de mg/kg.

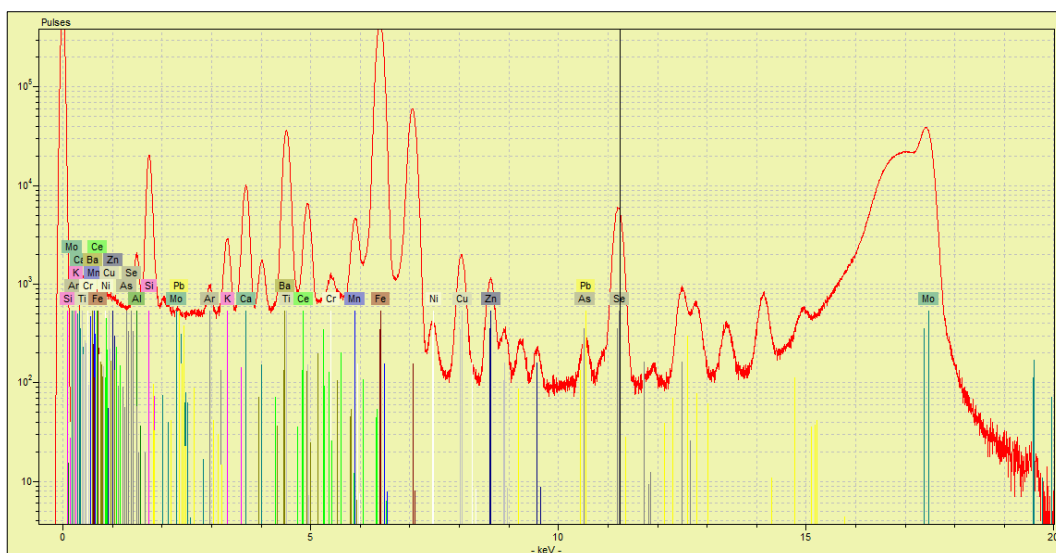


Figura 4.9 - Espectro de TXRF para amostra de sedimento do córrego Bezerra.

Tabela 4.7 – Estatística descritiva relativa aos dados gerais obtidos

| Elemento | Média (N= 36) | Mínimo | Máximo | Variância | Desvio-Padrão |
|------------|---------------|--------|--------|-----------|---------------|
| Al (%) | 4,33 | 1,34 | 8,98 | 2 | 1,6 |
| K (mg/kg) | 1106 | 429 | 2144 | 146925 | 383 |
| Ca (mg/kg) | 3771,5 | 1946 | 7448 | 1430080 | 1196 |
| Ti (%) | 2,01 | 0,96 | 4,9 | 1 | 0,76 |
| Cr (mg/kg) | 116 | 64 | 249 | 1585 | 39,8 |
| Mn (mg/kg) | 784 | 429 | 1523 | 55208 | 235 |
| Fe (%) | 9,9 | 6,5 | 18,1 | 5 | 2,2 |
| Ni (mg/kg) | 29,8 | 18 | 46 | 37 | 6,1 |
| Cu (mg/kg) | 324 | 151 | 703 | 17816 | 133,5 |
| Zn (mg/kg) | 154 | 87 | 349 | 3433 | 58,6 |
| Pb (mg/kg) | 188 | 103 | 344 | 2384 | 48,8 |

Uma vez que foram realizadas 36 leituras de 3 pontos e 12 coletas diferentes ao longo de 3 anos, e ainda considerando o fato de que o ciclo hidrológico influi na composição do sedimento e conseqüentemente dos elementos no meio, era de se esperar valores altos relativos à variância. Entretanto, as médias dos valores medidos referentes à concentração dos elementos químicos maioritários como alumínio, ferro e titânio presentes nas amostras estão em ordem de grandeza condizente com o explicitado pela literatura referente ao solo do estado do Paraná (PARANÁ, 2005). Esse fato sugere a ideia de que parte das concentrações dos elementos é devido ao solo circundante, ou seja, arrastado ao longo do córrego pelas chuvas, através do processo de erosão fluviométrica, intensificada com a perda da mata ciliar do rio. O estudo realizado pelo MINEROPAR, descrito em

PARANA (2005) coletou informação de vários pontos ao longo do estado, para determinação das concentrações elementares de cada região do mesmo.

O solo da região oeste do Paraná possui naturalmente concentração elevada de vários metais, em especial de ferro, alumínio, titânio e cálcio, sendo estes elementos maioritários nas amostras coletadas e de metais pesados como cromo e chumbo. A alta variabilidade dos dados coletados apresentados na Tabela 4.7, ou seja, entre as concentrações máximas e mínimas para cada elemento, justifica-se pela diferença entre os pontos e de possíveis fontes de contaminação no percurso hídrico do córrego, e também pelo fato de que o sedimento é carregado em períodos de chuva, modificando o material entre as coletas. A Figura 4.10 ilustra o gráfico ilustrando o a precipitação média nos meses em que foram realizadas as coletas de sedimento. A Tabela 4.8 demonstra os valores das concentrações dos elementos monitorados. É importante notar que a concentração dos elementos chumbo, cromo, cobre e zinco estão acima do valor de prevenção (CONAMA, 2012).

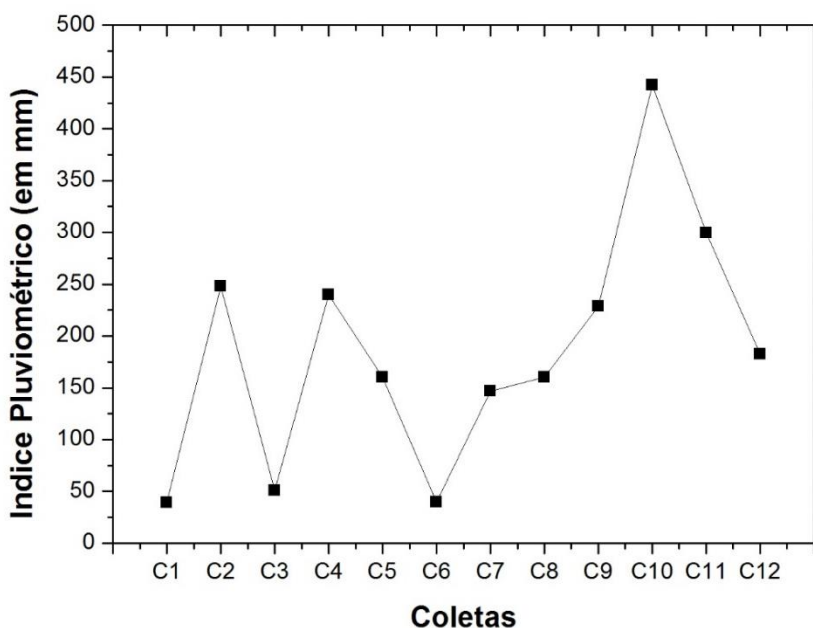


Figura 4.10 – Índice de precipitação pluviométrica na cidade de Cascavel nos Meses de coleta. Fonte dos dados: SIMEPAR.

Tabela 4.8 - Média das concentrações elementares e desvio-padrão obtidos ao longo de 3 pontos do córrego Bezerra.
Foram realizadas 12 coletas trimestrais ao longo de 3 anos

| P | ELEMENTO | 2012 | | | | 2013 | | | | 2014 | | | |
|------------|------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 | C9 | C10 | C11 | C12 |
| 1 | Al (%) | 2,62 ± 0,01 | 5,37 ± 0,57 | 5,40 ± 0,1 | 5,93 ± 0,2 | 5,03 ± 0,1 | 4,35 ± 0,2 | 4,32 ± 0,2 | 4,21 ± 0,2 | 2,5 ± 0,3 | 6,68 ± 0,2 | 6,79 ± 0,2 | 5,1 ± 0,3 |
| | K (mg/kg) | 1968 ± 1135 | 429 ± 123 | 1529 ± 218 | 603 ± 129 | 830 ± 102 | 1081 ± 55 | 1015 ± 75 | 859 ± 64 | 1209 ± 37 | 722 ± 67 | 1340 ± 83 | 1339 ± 31 |
| | Ca (mg/kg) | 4023 ± 55 | 2046 ± 157 | 5381 ± 468 | 1946 ± 141 | 2325 ± 197 | 3364 ± 10 | 3147 ± 71 | 4030 ± 277 | 3991 ± 345 | 2078 ± 20 | 4073 ± 344 | 4848 ± 153 |
| | Ti (%) | 1,49 ± 0,03 | 1,97 ± 0,02 | 1,52 ± 0,02 | 1,80 ± 0,1 | 1,58 ± 0,1 | 1,36 ± 0,04 | 1,54 ± 0,06 | 2,24 ± 0,1 | 2,27 ± 0,09 | 1,78 ± 0,1 | 1,86 ± 0,03 | 1,63 ± 0,06 |
| | Cr (mg/kg) | 84 ± 6 | 111 ± 6 | 85 ± 3 | 90 ± 2 | 93 ± 3,5 | 115 ± 5 | 90 ± 5 | 102 ± 3 | 116 ± 10 | 103 ± 4 | 134 ± 6 | 99 ± 10 |
| | Mn (mg/kg) | 598 ± 5 | 612 ± 61 | 784 ± 39 | 564 ± 38 | 472 ± 35 | 519 ± 34 | 542 ± 43 | 669 ± 27 | 773 ± 35 | 514 ± 21 | 732 ± 24 | 725 ± 10 |
| | Fe (%) | 6,9 ± 0,1 | 11,4 ± 0,6 | 9,23 ± 0,6 | 9,44 ± 0,1 | 7,46 ± 0,3 | 8,32 ± 0,6 | 7,77 ± 0,2 | 9,91 ± 0,4 | 10,3 ± 0,9 | 9,18 ± 0,4 | 8,26 ± 0,08 | 9,78 ± 0,6 |
| | Ni (mg/kg) | 22 ± 6 | 46 ± 2 | 28 ± 1 | 34 ± 1 | 30 ± 0,2 | 29 ± 2 | 28 ± 0,06 | 39 ± 2 | 25 ± 1 | 42 ± 2 | 42 ± 0,8 | 28 ± 2 |
| | Cu (mg/kg) | 213 ± 4 | 521 ± 37 | 703 ± 198 | 441 ± 16 | 255 ± 4 | 217 ± 12 | 222 ± 7 | 326 ± 19 | 313 ± 18 | 278 ± 21 | 346 ± 3 | 207 ± 15 |
| | Zn (mg/kg) | 213 ± 20 | 249 ± 10 | 309 ± 70 | 139 ± 9 | 128 ± 5 | 111 ± 9 | 108 ± 2 | 166 ± 7 | 138 ± 9 | 123 ± 6 | 170 ± 2 | 119 ± 9 |
| Pb (mg/kg) | 103 ± 7,5 | 215 ± 32 | 211 ± 17 | 215 ± 1,5 | 154 ± 5 | 175 ± 15 | 133 ± 3 | 249 ± 8 | 150 ± 37 | 202 ± 13 | 201 ± 8 | 170 ± 16 | |
| 2 | Al (%) | 3,14 ± 0,1 | 4,32 ± 0,3 | 4,72 ± 0,2 | 8,98 ± 0,2 | 2,24 ± 0,2 | 3,86 ± 0,1 | 3,95 ± 0,3 | 2,42 ± 0,04 | 2,86 ± 0,1 | 3,02 ± 0,4 | 4,58 ± 0,06 | 5,56 ± 0,3 |
| | K (mg/kg) | 1114 ± 35 | 713 ± 53 | 1312 ± 73 | 927 ± 104 | 1354 ± 175 | 1112 ± 141 | 1013 ± 118 | 1026 ± 48 | 1223 ± 54 | 2144 ± 168 | 1016 ± 14 | 1756 ± 79 |
| | Ca (mg/kg) | 3147 ± 96 | 2984 ± 245 | 4908 ± 413 | 2660 ± 36 | 4835 ± 277 | 2864 ± 131 | 4929 ± 380 | 4720 ± 438 | 3361 ± 188 | 7448 ± 1411 | 3022 ± 118 | 3760 ± 467 |
| | Ti (%) | 2,22 ± 0,1 | 1,94 ± 0,1 | 2,20 ± 0,03 | 2,2 ± 0,05 | 1,39 ± 0,1 | 1,16 ± 0,07 | 2,07 ± 0,1 | 3,44 ± 0,1 | 0,96 ± 0,04 | 1,22 ± 0,1 | 1,44 ± 0,1 | 1,58 ± 0,1 |
| | Cr (mg/kg) | 111 ± 10 | 94 ± 5 | 111 ± 9 | 127 ± 1 | 77 ± 3 | 89 ± 15 | 102 ± 0,7 | 127 ± 10 | 64 ± 6 | 75 ± 4 | 96 ± 8 | 96 ± 6 |
| | Mn (mg/kg) | 968 ± 79 | 715 ± 53 | 979 ± 25 | 795 ± 31 | 686 ± 4 | 922 ± 53 | 1035 ± 90 | 1056 ± 117 | 768 ± 28 | 1126 ± 43 | 606 ± 14 | 1070 ± 68 |
| | Fe (%) | 9,8 ± 0,4 | 9,46 ± 0,5 | 10,4 ± 0,2 | 12 ± 0,08 | 7,64 ± 0,2 | 8 ± 0,4 | 10,7 ± 0,5 | 14 ± 0,2 | 6,5 ± 0,1 | 9,54 ± 0,4 | 8,83 ± 0,2 | 9,63 ± 0,3 |
| | Ni (mg/kg) | 23 ± 1 | 27 ± 2 | 27 ± 0,5 | 36 ± 2 | 21 ± 0,7 | 23 ± 2 | 30 ± 1 | 30 ± 2 | 18 ± 1 | 27 ± 2 | 26 ± 0,2 | 29 ± 1 |
| | Cu (mg/kg) | 297 ± 24 | 281 ± 16 | 691 ± 107 | 290 ± 12 | 197 ± 9 | 189 ± 10 | 277 ± 13 | 403 ± 32 | 151 ± 3 | 228 ± 4 | 221 ± 5 | 262 ± 13 |
| | Zn (mg/kg) | 137 ± 7 | 142 ± 6 | 349 ± 35 | 150 ± 2 | 97 ± 0,7 | 96 ± 4 | 136 ± 6 | 181 ± 12 | 87 ± 0 | 115 ± 11 | 108 ± 2 | 125 ± 11 |
| Pb (mg/kg) | 136 ± 11 | 113 ± 13 | 191 ± 12 | 214 ± 12 | 126 ± 16 | 152 ± 15 | 219 ± 9 | 214 ± 7 | 113 ± 7 | 158 ± 40 | 168 ± 10 | 164 ± 3 | |
| 3 | Al (%) | 4,55 ± 0,2 | 5,77 ± 0,06 | 4,54 ± 0,2 | 5,78 ± 0,3 | 2,23 ± 0,1 | 5,15 ± 0,2 | 1,34 ± 0,1 | 4,04 ± 0,3 | 4,54 ± 0,2 | 2,21 ± 0,2 | 5,15 ± 0,1 | 2,57 ± 0,2 |
| | K (mg/kg) | 1278 ± 50 | 923 ± 22 | 1033 ± 85 | 1265 ± 85 | 1295 ± 33 | 707 ± 2 | 968 ± 35 | 683 ± 23 | 1708 ± 103 | 750 ± 99 | 574 ± 98 | 1007 ± 77 |
| | Ca (mg/kg) | 3808 ± 270 | 2768 ± 277 | 3309 ± 16 | 3092 ± 220 | 5397 ± 255 | 2342 ± 123 | 4708 ± 220 | 2966 ± 318 | 4105 ± 137 | 3469 ± 86 | 5768 ± 61 | 4153 ± 140 |
| | Ti (%) | 2,63 ± 0,3 | 2,3 ± 0,09 | 1,8 ± 0,01 | 1,7 ± 0,05 | 1,89 ± 0,2 | 1,39 ± 0,74 | 2,91 ± 0,3 | 2,56 ± 0,08 | 1,44 ± 0,09 | 2,78 ± 0,2 | 4,9 ± 0,5 | 3,34 ± 0,2 |
| | Cr (mg/kg) | 165 ± 17 | 108 ± 1 | 96 ± 0,7 | 112 ± 7 | 212 ± 4 | 108 ± 1 | 163 ± 8 | 137 ± 34 | 81 ± 4 | 143 ± 20 | 249 ± 6 | 204 ± 6 |
| | Mn (mg/kg) | 878 ± 68 | 570 ± 62 | 598 ± 13 | 659 ± 55 | 871 ± 50 | 429 ± 4 | 1101 ± 80 | 921 ± 68 | 540 ± 8 | 871 ± 19 | 1523 ± 73 | 1023 ± 47 |
| | Fe (%) | 12 ± 0,7 | 7,63 ± 0,3 | 9,83 ± 1,6 | 10 ± 0,6 | 9,77 ± 0,3 | 8 ± 0,7 | 12,4 ± 0,8 | 11,3 ± 0,8 | 7,89 ± 0,6 | 11,4 ± 0,2 | 18,1 ± 1,5 | 13,2 ± 0,7 |
| | Ni (mg/kg) | 30 ± 0,6 | 37 ± 0,5 | 27 ± 0,1 | 33 ± 2 | 24 ± 0,5 | 31 ± 2 | 29 ± 2 | 34 ± 0,7 | 26 ± 0,1 | 31 ± 4 | 34 ± 2 | 29 ± 1 |
| | Cu (mg/kg) | 343 ± 30 | 277 ± 15 | 434 ± 24 | 286 ± 29 | 276 ± 6 | 202 ± 0,07 | 385 ± 16 | 336 ± 33 | 217 ± 6 | 353 ± 57 | 606 ± 22 | 415 ± 24 |
| | Zn (mg/kg) | 159 ± 3 | 134 ± 6 | 244 ± 10 | 133 ± 9 | 117 ± 3 | 98 ± 0,7 | 167 ± 5 | 139 ± 13 | 123 ± 5 | 138 ± 11 | 229 ± 1 | 167 ± 5 |
| Pb (mg/kg) | 187 ± 26 | 142 ± 7 | 225 ± 5 | 208 ± 14 | 178 ± 12 | 188 ± 0,7 | 245 ± 34 | 255 ± 14 | 187 ± 12 | 227 ± 0 | 344 ± 41 | 244 ± 21 | |

4.2.3 Resoluções Ambientais

As resoluções ambientais que regem sobre o meio ambiente no Brasil são elaboradas pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que é um órgão consultivo e deliberativo do Sistema Nacional do Meio Ambiente-SISNAMA, instituído pela Lei 6.938/81, que dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, regulamentada pelo Decreto 99.274/90 (CONAMA, 2012). Esse conselho é responsável pela elaboração de resoluções, moções, recomendações, proposições e decisões, referentes ao meio ambiente. Dessa forma, o CONAMA delibera sobre temas ambientais, em concordância com outros órgãos como por exemplo o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), visando o cumprimento dos objetivos da Política Nacional de Meio Ambiente, sendo o conteúdo das reuniões realizadas, abertas a toda a sociedade.

As resoluções consideravelmente importantes para a problemática ambiental no córrego bezerra abordadas nesse estudo são: 357/2005 que rege sobre águas subterrâneas e para consumo; 375/2006 referente aos limites máximos na concentração de elementos tóxicos em lodos de esgoto e 420/2009 relativa aos limites nas concentrações elementares para qualidade dos solos nos ambientes de atividade agrícola, residencial e industrial.

A resolução nº 420/2009 estabelece os valores do solo quanto à presença de substâncias químicas e as diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas (CONAMA, 2012). A Tabela 4.9 elenca os valores e os parâmetros norteadores referentes para comparação entre as concentrações elementares ideais ou Valor de Referência de Qualidade (VRQ), Valor de Prevenção (VP), Valor de Intervenção (VI). No caso de VRQ, a definição dos valores é realizada pelo estado da federação, sendo nessa tabela utilizado valores definidos pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB).

Dos valores descritos no presente estudo na lista de elementos elencados na Tabela 4.9, destacam-se os elementos chumbo, cromo, cobre e zinco com concentração média acima do VP e o elemento níquel possui concentração média próxima, mas também merece atenção, uma vez que os valores máximos deste ultrapassam o limite de prevenção. Também é importante notar que os valores

máximos para as concentrações de chumbo e cromo ultrapassam o limite de intervenção agrícola, ou seja, é necessário monitoramento da área para estudos mais abrangentes.

Tabela 4.9 – Valores orientadores para concentração elementar em solos e água subterrânea

| Substância | CAS Nº | Solo (mg kg ⁻¹ peso seco) | | | | | Água Subterrânea (µg L ⁻¹) |
|-----------------------------|------------|--------------------------------------|--------------------|---------------------------|-------------|----------------------|--|
| | | Valor de Referência Qualidade | Valor de Prevenção | Valor de Intervenção (VI) | | | |
| | | (VRQ) | (VP) | Agrícola | Residencial | Industrial | VI |
| INORGÂNICOS | | | | | | | |
| Antimônio ⁽¹⁾ | 7440-36-0 | <0,5 | 2 | 5 | 10 | 25 | 5 |
| Arsênio ⁽¹⁾ | 7440-38-2 | 3,5 | 15 | 35 | 55 | 150 | 10 |
| Bário | 7440-39-3 | 75 | 120 | 500 | 1300 | 7300 | 700 |
| Boro | 7440-42-8 | - | - | - | - | - | 2400 |
| Cádmio | 7440-43-9 | <0,5 | 1,3 | 3,6 | 14 | 160 | 5 |
| Chumbo | 7439-92-1 | 17 | 72 | 150 | 240 | 4400 | 10 |
| Cobalto ⁽¹⁾ | 7440-48-4 | 13 | 25 | 35 | 65 | 90 | 70 |
| Cobre ⁽²⁾ | 7440-50-8 | 35 | 60 | 760 | 2100 | 10000 ^(a) | 2000 |
| Crômio total ⁽¹⁾ | 7440-47-3 | 40 | 75 | 150 | 300 | 400 | 50 |
| Crômio hexavalente | 18540-29-9 | - | - | 0,4 | 3,2 | 10 | - |
| Mercúrio | 7439-97-6 | 0,05 | 0,5 | 1,2 | 0,9 | 7 | 1 |
| Molibdênio | 7439-98-7 | <4 | 5 | 11 | 29 | 180 | 30 |
| Níquel ⁽²⁾ | 7440-02-0 | 13 | 30 | 190 | 480 | 3800 | 70 |
| Nitrato (como N) | 14797-55-8 | - | - | - | - | - | 10000 |
| Prata ⁽¹⁾ | 7440-22-4 | 0,25 | 2 | 25 | 50 | 100 | 50 |
| Selênio | 7782-49-2 | 0,25 | 1,2 | 24 | 81 | 640 | 10 |
| Zinco | 7440-66-6 | 60 | 86 | 1900 | 7000 | 10000 ^(a) | 1800 |

(1,2) Mantidos os valores orientadores da resolução 420/2009 do CONAMA.

Fonte: CETESB, 2014; CONAMA, 2012.

4.2.4 Análise multivariada dos dados

Adicionalmente, convencionou-se utilizar métodos da estatística multivariada de dados para análise dos resultados obtidos. Para o tratamento dos dados experimentais foi realizada uma transformação logarítmica, a fim de melhorar a correlação entre as variáveis e correção da não normalidade (HAIR *et al.*, 2006), constatada para alguns elementos (variáveis) no conjunto de dados e verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk, com intervalo de confiança de 95%. Com isso, foi possível a correção de *outliers*, ou seja, pontos tendenciosos entre os dados gerais o que pode ser verificado na Figura 4.11, após a transformação logarítmica.

Posteriormente, foi realizada a Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis* ou PCA) e Coeficiente de Correlação de Spearman com 95% de confiança.

A explicação para correlação entre as variáveis interdependentes presentes em uma amostra é dado por fatores. Dos 11 fatores gerados (um para cada 11 elementos analisados) apenas os fatores 1 e 2 carregam cerca de 70% da informação referente à variabilidade dos dados. Sendo utilizados, portanto, estes dois como parâmetro de representatividade do método multivariado. A Figura 4.11 ilustra a distribuição dos dados, demonstrando que estes seguem uma distribuição não tendenciosa à luz dos fatores 1 e 2. Nota-se que utilizando-se apenas os dois primeiros fatores gerados é possível explicar estatisticamente 70% da variabilidade dos dados. A Figura 4.12 ilustra a porcentagem de informação carregada por cada fator em relação a variável interdependente avaliada, representada por autovalores.

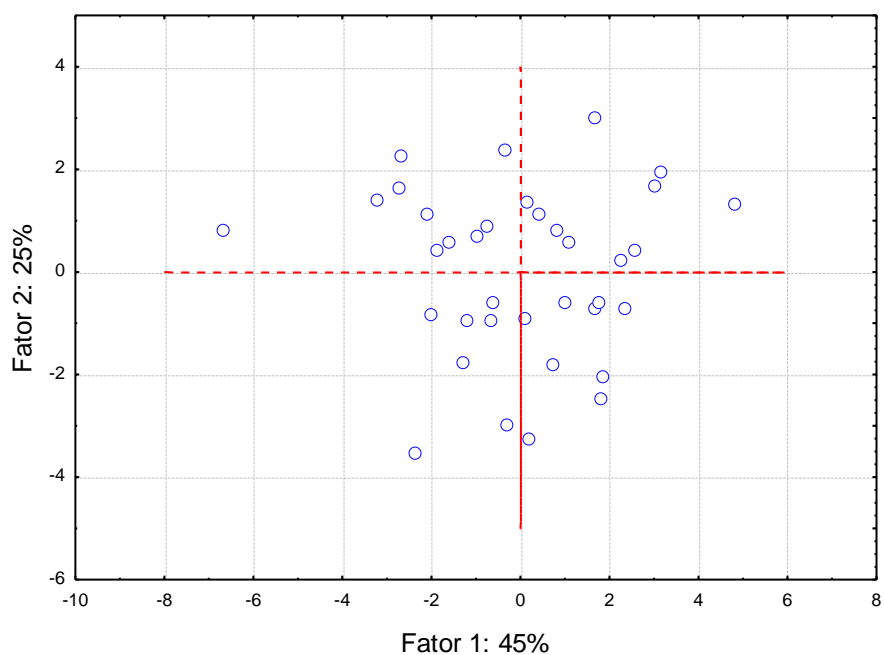


Figura 4.11 – Distribuição dos dados em relação aos Fatores 1 e 2.

Foi utilizado na interpretação dos dados gerados a partir da estatística multivariada a definição do nível de significância da análise segundo a definição de SCHMIDT (1975). Assim, formalmente o coeficiente de correlação pode ser classificado em cinco categorias: desprezível (0,00 a 0,29); baixo (0,30 a 0,49); moderado (0,50 a 0,79); alto (0,80 a 0,99) e perfeito (1,00). Como os fatores 1 e 2 foram considerados para explicação da PCA, tem-se na Tabela 4.10 a matriz de

correlação contendo os valores dos coeficientes da PCA para cada elemento químico.

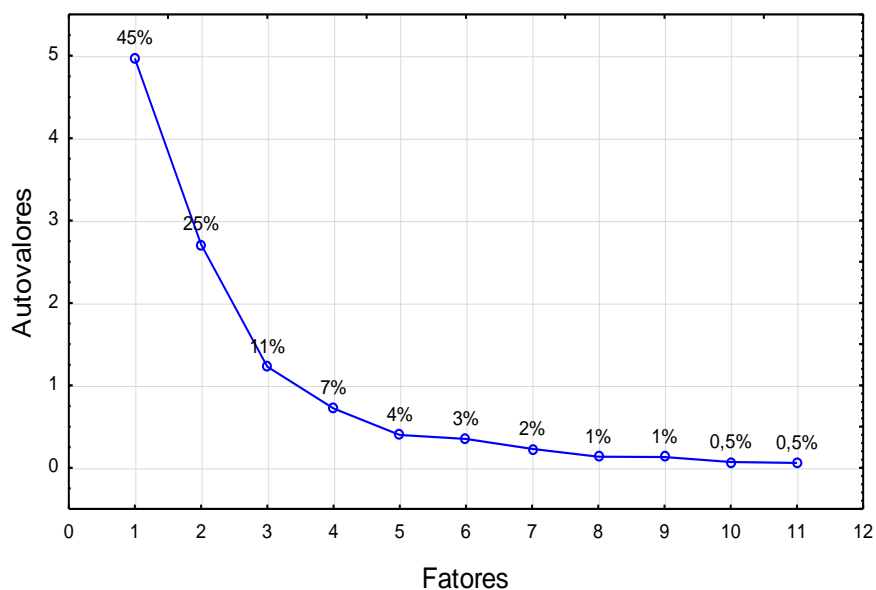


Figura 4.12 – Variância total (em %) em relação aos fatores gerados.

Todos os valores significativos dos coeficientes gerados para a variabilidade dos elementos avaliados encontraram-se nos fatores 1 e 2. Os valores positivos implicam em variação positiva (aumento na concentração) ao longo dos pontos. Os valores negativos indicam que existe uma correlação inversamente proporcional da influência do fator em relação a concentração do elemento ao longo dos pontos, ou seja, diminuição da concentração elementar.

Tabela 4.10 - Matriz de correlação

| Elementos | Fator 1 | Fator 2 |
|-----------|--------------|--------------|
| Al | -0,02 | -0,73 |
| K | 0,44 | 0,66 |
| Ca | -0,20 | 0,86 |
| Ti | -0,90 | 0,09 |
| Cr | -0,79 | 0,12 |
| Mn | -0,56 | 0,67 |
| Fe | -0,92 | 0,15 |
| Ni | -0,55 | -0,68 |
| Cu | -0,83 | -0,06 |
| Zn | -0,65 | 0,02 |
| Pb | -0,02 | -0,73 |

As Figura 4.13 e 4.14 ilustram a variação elementar ao longo dos pontos 1, 2 e 3 levando-se em consideração os fatores 1 e 2 respectivamente. Isso implica na variabilidade elementar, avaliada à luz dos pontos de coleta, que apresentavam características físico-químicas divergentes entre si.

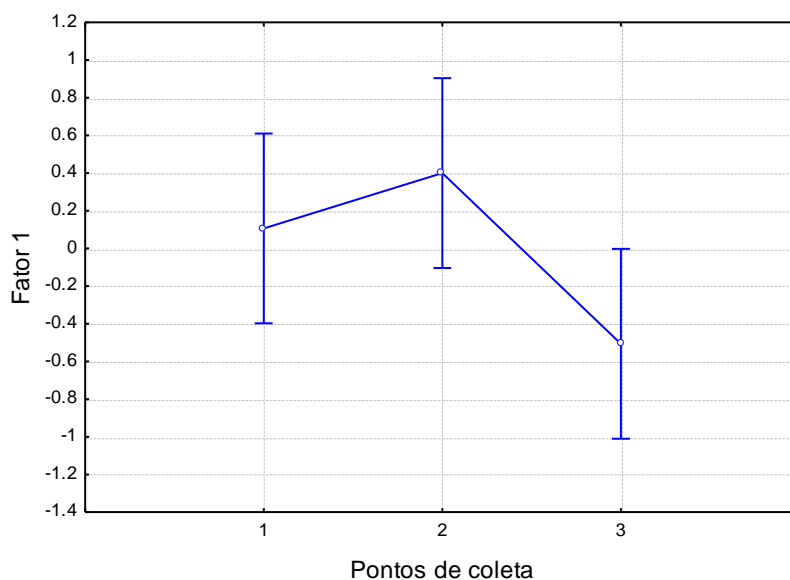


Figura 4.13 - Representação da variação entre os 3 pontos de coletas Em relação ao fator 1.

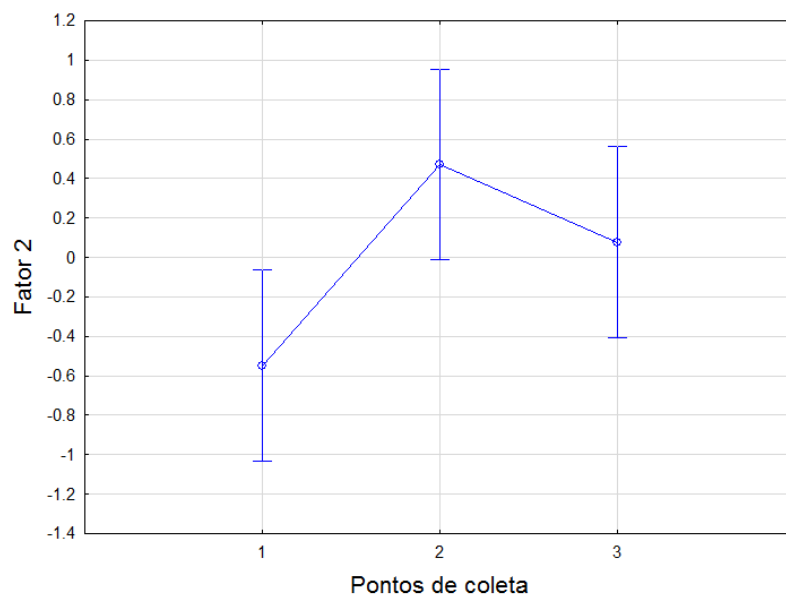


Figura 4.14 – Representação da variação entre os 3 pontos de coletas Em relação ao fator 2.

Para os elementos que possuem coeficientes com números positivos (conforme Tabela 4.10), há variação positiva ao longo dos pontos (aumento na concentração elementar). Quando os coeficientes apresentados são negativos, significa uma diminuição na concentração elementar ao longo dos pontos e

comportamento diretamente inverso em relação ao padrão apresentado nas Figuras 4.13 e 4.14, em termos de concentração. Os elementos destacados no fator 1 da Tabela 4.10 seguem conforme descrito na Figura 4.13 e os destacados no fator 2 variam conforme predito na Figura 4.14. Apesar da grande variabilidade dos dados apresentados (foram resultados de leituras obtidas de pontos divergentes ao longo de 3 anos), pode-se afirmar que existe uma tendência sensível no decréscimo médio nas concentrações elementares do ponto 1 em relação ao ponto 2 e grande aumento do ponto 2 ao ponto 3 para os elementos Ti, Fe, Cr, Zn e Cu. Do ponto 2 ao ponto 3 para os elementos correlacionados com o fator 2 houve aumento na concentração de Pb e de Ni. A Tabela 4.11 mostra que não houve variação significativa entre os valores das coletas, apenas entre os pontos, por isso não será realizado estudo referente à variação entre as coletas.

Tabela 4.11 - Análise de influência do Fator em relação aos pontos e as coletas

| Fator | Efeito | SQ | GL | QM | F | P |
|----------|---------------|-------------|----------|-------------|-------------|-------------|
| 1 | Pontos | 5,22 | 2 | 2,61 | 3,50 | 0,04 |
| 1 | Coletas | 13,34 | 11 | 1,21 | 1,62 | 0,16 |
| 1 | Erro | 16,44 | 22 | 0,75 | | |
| 2 | Pontos | 6,34 | 2 | 3,17 | 4,84 | 0,02 |
| 2 | Coletas | 14,25 | 11 | 1,30 | 1,98 | 0,08 |
| 2 | Erro | 14,41 | 22 | 0,65 | | |

A Tabela 4.12 enfatiza as correlações entre os elementos químicos, ou seja o grau de interação entre os elementos, utilizando-se o coeficiente de Spearman com 95% de nível de confiança:

Tabela 4.12 - Coeficientes de correlação de Spearman significativos a um nível de confiança de 95% para os elementos químicos contidos no sedimento (N=36)

| Elemento | Al | K | Ca | Ti | Cr | Mn | Fe | Ni | Cu | Zn | Pb |
|----------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|------|
| Al | 1,00 | | | | | | | | | | |
| K | | 1,00 | | | | | | | | | |
| Ca | -0,46 | 0,61 | 1,00 | | | | | | | | |
| Ti | | -0,42 | | 1,00 | | | | | | | |
| Cr | | -0,32 | | 0,81 | 1,00 | | | | | | |
| Mn | -0,36 | | 0,64 | 0,53 | 0,47 | 1,00 | | | | | |
| Fe | | -0,36 | | 0,86 | 0,75 | 0,68 | 1,00 | | | | |
| Ni | 0,56 | -0,56 | -0,35 | 0,41 | 0,33 | | 0,38 | 1,00 | | | |
| Cu | | -0,32 | | 0,65 | 0,47 | 0,37 | 0,66 | 0,44 | 1,00 | | |
| Zn | | | | 0,48 | | | 0,46 | 0,30 | 0,88 | 1,00 | |
| Pb | | -0,43 | | 0,64 | 0,62 | 0,33 | 0,75 | 0,61 | 0,65 | 0,42 | 1,00 |

Os elementos com forte correlação nesta análise variam sensivelmente dentro dos mesmos fatores conforme apresentados anteriormente. Todas as correlações moderadas ou altas variam positivamente, ou seja o incremento na concentração do dado elemento está relacionado com o aumento na concentração do outro elemento com o qual se relaciona. As correlações altas deram-se entre Cu-Zn e Ti-Fe e Ti-Cr, o que sugere a hipótese de que possuem mesma origem. As rochas ígneas na Formação da Serra geral da região, possui altas concentrações de Ti e Cr, e o solo da região oeste do estado do Paraná possui altas concentrações de Fe, o que explica em termos naturais as altas correlações entre esses elementos, e adicionalmente, tanto o cobre quanto zinco possuem origem similar. O fenômeno de intemperismo é um fator relevante nesse sentido. As altas correlações devem-se, normalmente às rochas-mãe formadoras do solo na região. No entanto, há necessidade de monitoramento das correlações entre Ti-Cr e Cu-Zn, independentemente da origem, pois os elementos cromo e cobre apresentam concentrações altas. A composição esperada do sedimento oriundo do córrego Bezerra é semelhante à do solo, uma vez que as chuvas são responsáveis pela erosão e deposição de solo no curso do rio.

Estudos apresentados em PARANÁ (2005), realizados pelo MINEROPAR, enfatizam que diversos fenômenos adicionais além do intemperismo e do efeito das chuvas, são responsáveis pela modificação da característica elementar de um determinado solo. Os fenômenos resultantes de pedogênese na lixiviação, migração e dispersão dos elementos no solo. Há ainda uma herança geoquímica oriunda das rochas formadoras de determinada região. Dessa maneira, os processos naturais que ocorrem no solo influenciam diretamente a composição dos sedimentos dos corpos hídricos. Dos elementos elencados no estudo, destaca-se ainda que no estado do Paraná em regiões com predominância de ocupação humana há valores elevados na concentração de chumbo, mercúrio, arsênio e titânio. Segundo os autores, há elevada concentração de arsênio na região de Cascavel, inclusive. É importante frisar que o presente estudo apresenta valores altos para concentração de cromo, chumbo, zinco e cobre, coincidindo com as observações referentes ao solo da região, dados pelo MINEROPAR. Como no caso do sedimento, este está em contato direto com a água, são necessários estudos adicionais e posteriormente a aplicação de propostas para recuperação e conservação da localidade.

5 CONCLUSÃO

A análise dos padrões sólidos certificados por TXRF, a fim de aferir metodologia confiável generalista para utilização de tal método espectrométrico, gerou dados que confirmaram a aplicabilidade da mesma para diversos tipos de materiais. Após realizados vários testes de parâmetros operacionais e réplicas, pode-se avaliar os resultados obtidos utilizando-se o conceito de recuperação das concentrações elementares médias das leituras em comparação com os valores certificados por materiais de referência certificados. Foram alcançados boa precisão e acurácia nos resultados para os 6 padrões avaliados, com recuperação média para cada elemento, próxima de 100% ao considerar a propagação de erros na análise. A aplicação da técnica espectrométrica a amostra reais deu-se a partir da análise de sedimento oriundo do córrego Bezerra, Cascavel - PR. A análise estatística descritiva demonstrou que os elementos majoritários presentes no sedimento foram ferro, alumínio e titânio e que as concentrações médias de chumbo, cromo, cobre e zinco estão acima do limite de prevenção (VP) para solos, segundo resolução 420/2009 do CONAMA. Com a estatística multivariada foi possível o estabelecimento de correlações com intuito de verificar a variabilidade dos dados. As correlações Cu-Zn, Ti-Fe e Ti-Cr possuem origem similar, ou seja, condizente com a composição das rochas ígneas responsáveis pela Formação da Serra Geral, no Paraná. Os elementos metálicos distribuíram-se em altas concentrações em todos os pontos avaliados. Há ainda, tendência de aumento nas concentrações ao longo dos pontos, o que sugere que, efeitos antropogênicos também estão influenciando na qualidade do ambiente, adicionalmente aos efeitos pedogênicos supracitados. Como sugestão para trabalhos futuros, existe a possibilidade de utilização de técnicas espectrométricas adicionais, testes interlaboratoriais e avaliação de contaminantes orgânicos no córrego Bezerra.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALOV, N. V. **Total reflection X-ray fluorescence analysis: Physical foundations and analytical application (A review)**. *Inorganic Materials*, v. 47(14), p. 1487-1499, 2011.

ÁLVAREZ-VÁZQUEZ, M. A.; BENDICHO, C.; PREGO, R. **Ultrasonic slurry sampling combined with total reflection X-ray spectrometry for multi-elemental analysis of coastal sediments in a ria system**. *Microchemical Journal*, v. 112(0), p. 172-180, 2014.

ANTOSZ, F. J.; XIANG, Y.; DIAZ, A. R.; JENSEN, A. J. **The use of total reflectance X-ray fluorescence (TXRF) for the determination of metals in the pharmaceutical industry**. *J. Pharm. Biomed. Anal.* v. 62, p. 17–22, 2012.

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Guia para a Expressão da Incerteza de Medição. Terceira edição brasileira em língua portuguesa**. Rio de Janeiro, ABNT, INMETRO, p. 120, 2003.

ATKINS, P. & LORETTA, J. **Princípios de química - questionando a vida moderna e o meio ambiente**. 5ª Edição, Editora Bookman, Porto Alegre, 2012.

BADOCCO, D.; LAVAGNINI, I.; MONDIN, A.; TAPPARO, A.; PASTORE, P. **Limit of detection in the presence of instrumental and non-instrumental errors: study of the possible sources of error and application to the analysis of 41 elements at trace levels by inductively coupled plasma-mass spectrometry technique**. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 107, p. 178-184, 2015.

BAHADIR, Z.; BULUT, V. N.; HIDALGO, M.; SOYLAK, M.; MARGUÍ, E. **Determination of trace amounts of hexavalent chromium in drinking waters by dispersive microsolid-phase extraction using modified multiwalled carbon nanotubes combined with total reflection X-ray fluorescence spectrometry**. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* v.107, p.170-177, 2015.

BEAUCHAINE, M. **Review of TXRF Applications for Trace Elemental Analysis**. Bruker AXS, Madison, 2013.

BRO, R. & SMILDE, A. K. **Principal component analysis**. *Anal. Methods*, v. 6, p. 2812–2831, 2014.

BRUKER. S2 PICOFOX TXRF. **Spectrometer for element analysis**. User manual. Berlim, 2011.

BORGESE, L.; BILO, F.; TSUJI, K.; FERNÁNDEZ-RUIZ, R.; MARGUI, E.; STRELI, C.; PEPPONI, G.; STOSNACH, H.; YAMADA, T.; VANDENABEELE, P.; MAINA, D. M.; GATARI, M.; SHEPHERD, K. D.; TOWETT, E. K.; BENNUN, L.; CUSTO, G.; VASQUEZ, C.; DEPERO, L. E. **First Total Reflection X-Ray Fluorescence round-robin test of water samples: Preliminary results**. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 101, p. 6-14, 2014.

BORGESE, L.; ZACCO, A.; PAL, S.; BONTEMPI, E.; LUCCHINI, R.; ZIMMERMAN, N.; DEPERO, L. E. **A new non-destructive method for chemical analysis of particulate matter filters: The case of manganese air pollution in Vallecamonica (Italy)**. Talanta, v. 84(1), p. 192-198, 2011

BORGESE, L.; ZACCO, A.; BONTEMPI, E.; PELLEGATTA, M.; VIGNA, L.; PATRINI, L.; RIBOLDI, L.; RUBINO, F. M.; DEPERO, L. E. **Use of total reflection X-ray fluorescence (TXRF) for the evaluation of heavy metal poisoning due to the improper use of a traditional ayurvedic drug**. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis v. 52(5), p. 787-790, 2010.

CARVALHO, M. L.; MAGALHÃES, T.; BECKER, M.; VON BOHLEN, A. **Trace elements in human cancerous and healthy tissues: A comparative study by EDXRF, TXRF, synchrotron radiation and PIXE**. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 62, n. 9, p. 1004-1011, 2007.

CARVALHO, N. O.; FILIZOLA N. P.; SANTOS, P. M. C.; LIMA, J. E. F. W. F. **Guia de práticas sedimentométricas**. Agencia Nacional de Energia Elétrica, Brasília, p. 33-64, 2000.

CASCAVEL. **Bacia hidrográfica do rio Cascavel - Proposta de recuperação ambiental**. Prefeitura municipal de Cascavel - PR, 1995.

CASCAVEL, Portal do município de Cascavel - Indicadores sócio-econômicos. Disponível em <<http://www.cascavel.pr.gov.br/indicadores.php>> Acesso em 12 de novembro de 2014, às 22:30.

CATALDO, F. **Multielement analysis of a municipal landfill leachate with total reflection X-ray fluorescence (TXRF). A comparison with ICP-OES analytical results**. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, v. 293(1), p. 119-126, 2012.

CHERKASHINA, T. Y.; PANTEEVA, S. V.; PASHKOVA, G. V. **Applicability of direct total reflection X-ray fluorescence spectrometry for multielement analysis of geological and environmental objects.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 99, p. 59-66, 2014.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resoluções vigentes publicadas entre setembro de 1984 e janeiro de 2012.** ministério do meio ambiente, Brasília, 2012. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>> Acesso em 12 de novembro de 2014, às 21:00.

CORRAR, L. J.; PAULO, E.; DIAS FILHO, J. M. **Análise multivariada para cursos de administração, ciências contábeis e economia.** Editora Atlas, São Paulo-SP, 2009.

COSTA, A. C. M.; ANJOS, M. J.; MOREIRA, S.; LOPES, R. T.; DE JESUS, E. F. O. **Analysis of mineral water from Brazil using total reflection X-ray fluorescence by synchrotron radiation.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 58(12), p. 2199-2204, 2003.

CULLITY, B. D.; STOCK, S. R.; **Elements of X-ray Diffraction.** Prentice Hall, Universidade de Michigan, 1956.

CUNHA E SILVA, R. M.; NASCIMENTO FILHO, V. F.; APPOLONI, C. R. **Fluorescência de raios X por dispersão em energia.** LFNATEC – Publicação técnica do laboratório de física nuclear aplicada, v. 08, n. 01, 2004.

DE LA CALLE, I.; COSTAS, M.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. **Use of high-intensity sonication for pre-treatment of biological tissues prior to multielemental analysis by total reflection X-ray fluorescence spectrometry.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 67, p. 43-49, 2012.

DE LA CALLE, I.; CABALEIRO, N.; ROMERO, V.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. **Sample pretreatment strategies for total reflection X-ray fluorescence analysis: A tutorial review.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 90, p. 23-54, 2013a.

DE LA CALLE, I.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. **Ultrasound-assisted single extraction tests for rapid assessment of metal extractability from soils by total reflection X-ray fluorescence.** Journal of Hazardous Materials, v. 260, p. 202-209, 2013b.

DE LA CALLE, I.; COSTAS, M.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. **Fast method for multielemental analysis of plants and discrimination according to the anatomical part by total reflection X-ray fluorescence spectrometry.** Food Chemistry, v. 138(1), p. 234-241, 2013c.

DE VIVES, A. E. S.; BRIENZA, S. M. B.; MOREIRA, S.; ZUCCHI, O. L. A. D.; BARROSO, R. C.; DO NASCIMENTO FILHO, V. F. **Evaluation of the availability of heavy metals in lake sediments using SR-TXRF.** Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment, v. 579(1), p. 503-506, 2007.

DETCHEVA, A. K.; MITSIEV, S. E.; VASSILEVA, P. S.; JORDANOV, J. H.; KARADJOV, M. G.; IVANOVA, E. **Total reflection X-ray fluorescence analysis of fly ash from Bulgarian coal-fired power plants.** Chemical Papers, v. 69(5), p. 650-654, 2015.

DHARA, S.; MISRA, N. L.; MAIND, S. D.; KUMAR, S. A.; CHATTOPADHYAY, N.; AGGARWAL, S. K. **Forensic application of total reflection X-ray fluorescence spectrometry for elemental characterization of ink samples.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 65(2), p. 167-170, 2010.

DOQ. DOCUMENTO DE CARÁTER ORIENTATIVO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos.** Coordenação Geral de Acreditação, 2011.

DOQ. DOCUMENTO DE CARÁTER ORIENTATIVO. **Orientações sobre verificação intermediária das balanças** Coordenação Geral de Acreditação, 2012.

DOQ. DOCUMENTO DE CARÁTER ORIENTATIVO. **Exemplos de estimativa de incerteza de medição ensaios químicos.** Coordenação Geral de Acreditação, 2013a.

DOQ. DOCUMENTO DE CARÁTER ORIENTATIVO. **Definições de termos utilizados nos documentos relacionados à acreditação de laboratórios, produtores de materiais de referência e provedores de ensaios de proficiência** Coordenação Geral de Acreditação, 2013b.

DUFFUS, J. H. **“HEAVY METALS”— A meaningless term, IUPAC Technical Report.** Pure Appl. Chem., v. 74(5), p. 793–807, 2002.

ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; **Estudo da bioacumulação de cromo pelas macrófitas aquáticas salvinia auriculata, pistia stratiotes e eicchornia crassipes, usando técnicas espectrométricas de raios X.** Monografia (professor associado). Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo – Pr. 2007.

ESPINOZA-QUIÑONES, F.R.; MÓDENES, A.N.; THOMÉ, L.P.; PALÁCIO, S.M.; TRIGUEROS, D.E.G.; OLIVEIRA, A.P.; SZYMANSKI, N.; **Study of the bioaccumulation kinetic of lead by living aquatic macrophyte *Salvinia auriculata*.** Chemical Engineering Journal; v. 150; p. 316–322; 2009.

ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; PALÁCIO, S. M.; MÓDENES, A. N.; SZYMANSKI, N.; ZACARKIM, C. E.; ZENATTI, D. C.; FORNARI, M. M. T.; RIZZUTTO, M. A.; TABACNIKS, M. H.; ADDED, N.; KROUMOV, A. D. **Water quality assessment of Toledo River and determination of metal concentrations by using SR-TXRF technique.** Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, v. 283, p. 465–470, 2010.

ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N.; PALÁCIO, S. M.; LORENZ, E. K.; OLIVEIRA, A. P. **Analysis of metal concentration levels in water, sediment and fish tissues from Toledo municipal lake by applying SR-TXRF technique.** Water Sci Technol 63(1506):37, 2011.

ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N.; DE PAULI, A. R.; PALÁCIO, S. M. **Analysis of Trace Elements in Groundwater Using ICP-OES and TXRF Techniques and Its Compliance with Brazilian Protection Standards.** Water, Air, & Soil Pollution, v. 226(3), p. 1-12, 2015.

FERNÁNDEZ-RUIZ, R.; GARCIA-HERAS, M. **Analysis of archaeological ceramics by total-reflection X-ray fluorescence: Quantitative approaches.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 63(9), p. 975-979, 2008.

FILHO, V. F. N. **Técnicas analíticas nucleares de Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (ED-XRF) e por Reflexão Total (TXRF).** Laboratório de Instrumentação Nuclear/CENA, 1999.

FLOOR, G. H.; QUERALT, I.; MARGUÍ, E. **Measurement uncertainty in Total Reflection X-ray Fluorescence.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. v.111, (1) p. 30–37, 2015.

GARCÍA-REPETTO, R. **Interpretación de resultados toxicológicos post-mórtem: criterios de garantía de calidad.** Revista Española de Medicina Legal, v. 41(1): p. 9-18, 2015.

GERWINSKI, W.; GOETZ D. **Multielemental analysis of standard reference material with Total Reflection X-ray Fluorescence (TXRF).** Fres. Z. Anal. Chem., 327:690, 1987.

GUILHERME, L. R. G.; MARQUES, J. J.; PIERANGELI, M. A. P.; ZULIANI, D. Q.; CAMPOS, M. L. **Elementos traço em solos, sedimentos e águas.** Tópicos de Ciências do Solo, v. 4, p. 345-390, 2005.

HAIR JR., J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. **Multivariate Data Analysis.** 6 Ed., New Jersey. Pearson Education, p. 866, 2006.

HAMPAI, D.; DABAGOV, S. B.; POLESE, C.; LIEDL, A.; CAPPUCCIO, G. **Laboratory total reflection X-ray fluorescence analysis for low concentration samples.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 101, p. 114-117, 2014.

HEBBERT, M. **Climatology for city planning in historical perspective.** Urban Climate 10, v. 2, p. 204-215, 2014.

HEI. HEALTH EFFECTS INSTITUTE. **Health effects institute traffic-related air pollution: a critical review of the literature on emissions, exposure, and health effects.** Report 17, 2010.

HENDERSON, N.; BEAUCHAINE, M. **Forensics Analysis with X-Ray Diffraction and X-Ray Fluorescence.** Bruker AXS Inc., Madison, USA, 2013.

HOEFLER, H.; STRELI, C.; WOBRAUSCHEK, P.; ÓVÁRI, M.; ZÁRAY, G. **Analysis of low Z elements in various environmental samples with total reflection X-ray fluorescence (TXRF) spectrometry.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 61, n. 10–11, p. 1135-1140, 2006.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental.** 6º Edição, Porto Alegre, RS: Editora Bookman, p. 317-342, 2009.

HORNTRICH, C.; KREGSAMER, P.; WOBRAUSCHEK, P.; STRELI, P. **Considerations on the ideal sample shape for total reflection X-ray fluorescence analysis.** Spectrochim. Acta Part B v. 66, p. 815–821, 2012.

HOU, X.; JONES, B. T. **Inductively coupled plasma/optical emission spectrometry.** Encyclopedia of analytical chemistry, p. 9468–9485, 2000.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo demográfico de Cascavel 2010 e estimativas populacionais.** Disponível em: <<http://www.censo2010.ibge.gov.br>>. Acesso em 12 de novembro de 2014, às 17:40.

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **GUIDE 32:1997.** Calibration of chemical analysis and use of certified reference materials, 1997.

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **5725-3:1994.** Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Basic methods for the determination of the trueness of a standard measurement method. 1994.

KANNEL, P. R.; LEE, S.; LEE, Y. **Assessment of spatial–temporal patterns of surface and ground water qualities and factors influencing management strategy of groundwater system in an urban river corridor of Nepal.** Journal of Environmental Management v.86, p. 595–604, 2008.

KARJOU, J. **Matrix effect on the detection limit and accuracy in total reflection X-ray fluorescence analysis of trace elements in environmental and biological samples.** Spectrochim. Acta Part B, v. 62 p. 177–181, 2007.

KLOCKENKÄMPER, R.; A. VON BOHLEN. **Total-Reflection X-Ray Fluorescence Analysis and Related Methods: Second Edition.** Berlin, Germany, p. 1-519, 2015.

KUBALA-KUKUŚ, A.; LUDWIKOWSKA-KĘDZIA, M.; BANAŚ, D.; BRAZIEWICZ, J.; MAJEWSKA, U.; PAJEK, M.; WUDARCZYK-MOĆKO, J. **Application of the X-ray fluorescence analysis and X-ray diffraction in geochemical studies of the Pleistocene tills from Holy Cross Mountains.** Radiation Physics and Chemistry v. 93: p. 92-98, 2013

KUYKENDALL, J. R.; MILLER K. L.; MELLINGER, K. N.; CAIN, A. V. **Waterborne and dietary hexavalent chromium exposure causes DNA-protein crosslink (DPX) formation in erythrocytes of largemouth bass (*Micropterus salmoides*).** *Aquatic Toxicology* 78(1), p. 27-31, 2006.

LACERDA, L.D. **Amazon mercury emissions.** *Nature*, v. 374, p. 20-21, 1995.

LANKOSZ, M. W.; GRZELAK, M.; OSTACHOWICZ, B.; WANDZILAK, A.; SZCZERBOWSKA-BORUCHOWSKA, M.; WROBEL, P.; RADWANSKA, E.; ADAMEK, D. **Application of the total reflection X-ray fluorescence method to the elemental analysis of brain tumors of different types and grades of malignancy.** *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 101, p. 98-105, 2014.

LEITÃO, R. G.; PALUMBO JR, A.; SOUZA, P. A.V. R.; PEREIRA, G. R.; CANELLAS, C. G. L.; ANJOS, M. J.; NASCIUTTI, L. E.; LOPES, R. T. **Elemental concentration analysis in prostate tissues using total reflection X-ray fluorescence.** *Radiation Physics and Chemistry*, v. 95, p. 62-64, 2014.

LI, Y.; LI, M.; LV, Q.; CHEN, G.; CHEN, J.; LI, S.; MO, Y.; OU, S.; YUAN, Z.; LU, G.; JIANG, Y. **Relationship of lead and essential elements in whole blood from school-age children in Nanning, China.** *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 32, p. 107-111, 2015.

LOHREN, H.; BLAGOJEVIC, L.; FITKAU, R.; EBERT, F.; SCHILDKNECHT, S.; LEIST, M.; SCHWERDTLE, T. **Toxicity of organic and inorganic mercury species in differentiated human neurons and human astrocytes.** *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 32, p. 200-208, 2015.

LUCCHINI, R. G.; ALBINI, E.; BENEDETTI, L.; BORGHESI, S.; COCCAGLIO, R.; MALARA, E. C.; PARRINELLO, G.; GARATTINI, S.; RESOLA, S.; ALESSIO, L. **High prevalence of parkinsonian disorders associated to manganese exposure in the vicinities of ferroalloy industries.** *American Journal of Industrial Medicine*. v. 50(11), p. 788-800, 2007.

MA, J.; SENGUPTA, M. K.; YUAN, D.; DASGUPTA, P. K. **Speciation and detection of arsenic in aqueous samples: A review of recent progress in non-atomic spectrometric methods.** *Analytica Chimica Acta*, v. 831, p. 1-23, 2014.

MACKEY, E. A.; CHRISTOPHER, S. J.; LINDSTRON, R. M.; LONG, S. E.; MARLOW, A. F.; MURPHY, K. E.; PAUL, R. L.; POPELKA-FILCOFF, R. S.; RABB, S. A.; SIEBER, J. R.; SPATZ, R. O.; TOMLIN, B. E.; WOOD, L. J.; YU, L. L.;

ZEISLER, R. **Certification of Three NIST Renewal Soil Standard Reference Materials for Element Content: MRC 2709a San Joaquin Soil, MRC 2710a Montana Soil I, and MRC 2711a Montana Soil II.** Chemical Science and Technology Laboratory, Analytical Chemistry Division, p. 1-39, 2010.

MADERITSCH, A.; SMOLEK, S.; WOBRAUSCHEK, P.; STRELI, C.; TAKMAN, P. **Feasibility study of total reflection X-ray fluorescence analysis using a liquid metal jet X-ray tube.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 99, p. 67-69, 2014.

MANSOUR A. A.; SIDKY M. M. **Ecotoxicological studies: heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt** Food Chem., 78, p. 15–22, 2002.

MAY, W. E.; GILLS, T. E.; PARRIS, R.; BECK, II C. M.; FASSETT, J. D.; GETTINGS, R. J.; GREENBERG, R. R.; GUENTHER, F. R.; KRAMER, G.; MACDONALD, B. S.; WISE, S. A. **Definitions of Terms and Modes Used at NIST for Value Assignment of Reference Materials for Chemical Measurements,** NIST Special Publication p. 136-260, 1999.

MARCÓ P, L. M.; HERNÁNDEZ-CARABALLO, E. A. **Direct analysis of biological samples by total reflection X-ray fluorescence.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 59(8), p. 1077-1090, 2004.

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

MARGUÍ, E.; FLOOR, G. H.; HIDALGO, M.; KREGSAMER, P.; ROMAN-ROSS, G.; STRELI, C.; QUERALT, I. **Analytical approaches for Hg determination in wastewater samples by means of total reflection X-ray fluorescence spectrometry.** Talanta, v. 82(2), p. 821-827, 2010a.

MARGUÍ, E.; FLOOR, G. H.; HIDALGO, M.; KREGSAMER, P.; ROMAN-ROSS, G.; STRELI, C.; QUERALT, I. **Applicability of direct total reflection X-ray fluorescence analysis for selenium determination in solutions related to environmental and geochemical studies.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 65(12): p. 1002-1007, 2010b.

MARGUÍ, E.; ZAWISZA, B.; SITKO, R. **Trace and ultratrace analysis of liquid samples by X-ray fluorescence spectrometry.** TrAC Trends in Analytical Chemistry, v. 53, p. 73-83, 2014.

MARTÍNEZ GONZÁLEZ, M. A. **Criterios cualitativos en toxicología forense.** Revista Española de Medicina Legal, v. 38(2), p. 68-75, 2012.

MARTÍNEZ GONZÁLEZ, M. A. **Criterios cuantitativos en toxicología forense.** Revista Española de Medicina Legal, v. 40(1), p. 30-38, 2014.

MONTGOMERY, D. C. & RUNGER G. C. **Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros.** 5° Ed., LTC editora, Rio de Janeiro, 2013.

MOREIRA, S.; FAZZA, E. V. **Evaluation of water and sediment of the Graminha and Aguas da Serra streams in the city of Limeira (SP-Brazil) by synchrotron radiation total reflection x-ray fluorescence.** Spectrochim Acta Part B, v. 63 p. 1432–1444, 2008

MORETTI, G. **The Wagner plot and the Auger parameter as tools to separate initial- and final-state contributions in X-ray photoemission spectroscopy.** Surface Science, v. 618, p. 3-11, 2013.

OBREGÓN, P. L.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N. **Water quality monitoring of the Bezerra River (Cascavel, Brazil) using SR-TXRF.** Journal of Chemistry and Chemical Engineering, v. 8, p. 587–595, 2014.

OIAMO, T.H.; LUGINAAH, I. N.; BUZZELLI, M.; TANG, K.; BROOK, T.H.; JOHNSON, M. **Assessing the spatial distribution of nitrogen dioxide in London, Ontario** J. Air Waste Manage. Assoc., v. 62, p. 1335–1345, 2012.

OIAMO, T. H.; JOHNSON, M.; TANG, K.; LUGINAAH, I. N. **Assessing traffic and industrial contributions to ambient nitrogen dioxide and volatile organic compounds in a low pollution urban environment.** Science of The Total Environment, v. 529, p. 149-157, 2015.

OLIVEIRA, L. C. M., **Técnicas de Análise e Caracterização de materiais - XRF.** Universidade Estadual de Campinas, 2000.

OSÁN, J.; KURUNCZI, S.; TÖRÖK, S.; VAN GRIEKEN, R. **X-Ray analysis of riverbank sediment of the Tisza (Hungary): identification of particles from a mine pollution event.** Spectrochimica Acta Part B, Atomic Spectroscopy v. 57(3), p. 413-422, 2002.

OSÁN, J.; TÖRÖK, S.; ALFÖLDY, B.; ALSE CZ, A.; FALKENBERG, G.; BAIK, S. Y.; VAN GRIEKEN, R. **Comparison of sediment pollution in the rivers of the Hungarian Upper Tisza Region using non-destructive analytical techniques.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 62, n. 2, p. 123-136, 2007.

PALERMO, F. F.; RISSO, W. E.; SIMONATO, J. D.; MARTINEZ, C. B. R. **Bioaccumulation of nickel and its biochemical and genotoxic effects on juveniles of the neotropical fish Prochilodus lineatus.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 116, p. 19-28, 2015.

PASHKOVA, G. V.; REVENKOA, A. G.; FINKELSHTEIN, A. L. **Study of factors affecting the results of natural water analyses by total reflection X-ray fluorescence.** X-Ray Spectrom., v. 42, p. 524–530, 2015.

PARANÁ. MINEROPAR. **Geoquímica de solo - levantamento geoquímico multielementar do estado do Paraná.** Mineropar, Curitiba, PR, 2005.

PARANÁ. SECRETARIA DE ESTADO DO MEIO AMBIENTE. **Bacias hidrográficas do Paraná.** v. 1, Governo do estado do Paraná, 2010.

PARRATT, L. G. **Surface studies of solids by total reflection of x-rays.** Physical Review v. 95(2), p. 359-369, 1954.

PAULETTE, L.; MAN, T.; WEINDORF, D. C.; PERSON, T. **Rapid assessment of soil and contaminant variability via portable x-ray fluorescence spectroscopy: Copșa Mică, Romania.** Geoderma, v. 244, p. 130-140, 2015.

POLGÁRI, Z.; SZOBOSZLAI, N.; ÓVÁRI, M.; ZÁRAY, G. **Possibilities and limitations of the total reflection X-ray fluorescence spectrometry for the determination of low Z elements in biological samples.** Microchemical Journal, v. 99, n. 2, p. 339-343, 2011.

RUANGSOMBOON, S.; L. WONGRAT. **Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*Chlorella vulgaris*), zooplankton (*Moina macrocopa*), and the predatory catfish *Clarias macrocephalus* X *C. gariepinus*.** Aquatic Toxicology v. 78(1), p. 15-20, 2006.

ROSCOE, K.; BEAUCHAINE, M. **TXRF for Trace Element Analysis in Clinical Chemistry, Metallomics, and Cancer Research** Bruker AXS. Madison, Wisconsin. 2013.

SCHMIDT, M. J. **Understanding and Using Statistics Basic Concepts.** Massachusetts, Estados Unidos da América. Heath and Company, p. 361, 1975.

SHAW, B. J.; SEMIN, D. J.; RIDER, M. E.; BEEBE, M. R. **Applicability of total reflection X-ray fluorescence (TXRF) as a screening platform for pharmaceutical inorganic impurity analysis.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis v. 63, p. 151-159, 2012.

SHIRASAWA, T.; TAKAHASHI, T. **Surface X-ray Diffraction. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering,** Elsevier, 2014.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, R. S. **Fundamentos de Química Analítica.** 8 Ed., São Paulo. Editora Cengage Learning, p. 972-999, 2005.

STRELI, C. **Total reflection X-ray fluorescence analysis of light elements.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 52, n. 3, p. 281-293, 1997.

STOSNACH, H. **Environmental trace-element analysis using a benchtop total reflection X-ray fluorescence spectrometer.** Analytical Sciences, v. 21(7), p. 873-876, 2005.

STOSNACH, H.; MAGES, M. **Analysis of nutrition-relevant trace elements in human blood and serum by means of total reflection X-ray fluorescence (TXRF) spectroscopy.** Spectrochim. Acta Part B, v. 64, p. 354-356, 2009.

SULIKOWSKI, J. A.; PROHASKA, B. K.; CARLSON, A. E.; CICIA, A. M.; BROWN, C. T.; MORGAN, A. C. **Observations of neonate spiny dogfish, *Squalus acanthias*, in Southern New England: A first account of a potential pupping ground in the Northwestern Atlantic.** Fisheries Research, v. 137, p. 59-62, 2013.

SZOBOSZLAI, N.; POLGÁRI, Z.; MIHUCZ, V. G.; ZÁRAY, G. **Recent trends in total reflection X-ray fluorescence spectrometry for biological applications.** Analytica Chimica Acta, v. 633(1), p. 1-18, 2009.

TAKAHARA, H.; MORI, Y.; SHIMAZAKI, A.; GOHSHI, Y. **Method and mechanism of vapor phase treatment-total reflection X-ray fluorescence for trace element analysis on silicon wafer surface.** Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, v. 65(12), p. 1022-1028, 2010.

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.

TELGSMANN, L.; HOLTkamp, M.; MICHAEL, K.; KUENNEMEYER, J.; GELHARD, C.; HARMANN, M.; KLOSE, A.; SPERLING, M.; KARST, U. **Simple and rapid quantification of gadolinium in urine and blood plasma samples by means of total reflection X-ray fluorescence (TXRF)**. *Metallomics*, v. 3, p. 1035–1040, 2011.

TOWETT, E. K.; SHEPHERD, K. D.; CADISCH, G. **Quantification of total element concentrations in soils using total X-ray fluorescence spectroscopy (TXRF)**. *Science of The Total Environment*, v. 463–464, p. 374-388, 2013.

TSUJI, K.; NAKANO, K.; TAKAHASHI, Y.; HAYASHI, K.; RO, C. U. **X-ray Spectrometry**. *Analytical Chemistry*, v. 84(2), p. 636-668, 2011.

UNITED STATES OF AMERICA. Department of Health and Human Services. **The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General**. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health. Atlanta, GA, 2004.

VON BOHLEN, A. **Total reflection X-ray fluorescence and grazing incidence X-ray spectrometry — Tools for micro- and surface analysis. A review**. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 64, n. 9, p. 821-832, 2009.

WAGNER, M.; ROSTAM-KHANI, P.; WITTERSHAGEN, A.; RITTMAYER, C.; KOLBESEN, B. O.; HOFFMANN, H. **Trace element determination in drugs by total-reflection X-ray fluorescence spectrometry¹**. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 52(7), p. 961-965, 1997.

WEBER NETO, J. **Avaliação de metais pesados em emissões atmosféricas de indústria automotiva por fluorescência de raios X**. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Dissertação (mestrado), 2007.

WIECHULA, D.; FISCHER, A.; KWAPULIŃSKI, J.; LOSKA, K.; FISCHER, T.; KURPAS, P. **Multivariate Statistical Analysis of Metal Concentrations in Teeth**

of Residents of Silesian Region, Southern Poland. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 51(2): p. 314-320, 2006.

WIECHULA, D.; JURKIEWICZ A.; KRZYSZTOF, L. **An assessment of natural concentrations of selected metals in the bone tissues of the femur head.** Science of The Total Environment v. 406 (1–2), p. 161-167, 2008.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **International Agency for Research on Cancer, Chromium, Nickel and Welding. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 49.** Lyon, France, p. 49–256, 1990.

WOBRAUSCHEK, P. **Total reflection x-ray fluorescence analysis - A review.** X-Ray Spectrometry, v. 36(5), p. 289-300, 2007.

YONEDA, Y.; HORIUUCHI, T. **Optical Flats for Use in X-Ray Spectrochemical Microanalysis.** Review of Scientific Instruments, v. 42, n. 7, p. 1069-1070, 1971.

ZEREINI, F.; ALT, F.; MESSERSCHMIDT, J.; WISEMAN, C.; FELDMANN, I.; VON BOHLEN, A.; MÜLLER, J.; LIEBL, K.; PÜTTMANN, W. **Concentration and Distribution of Heavy Metals in Urban Airborne Particulate Matter in Frankfurt am Main, Germany.** Environmental Science & Technology, v. 39 (9), p. 2983-2989, 2005.

ANEXOS



ANEXO A

National Institute of Standards & Technology

Report of Investigation

Reference Material 8704

Buffalo River Sediment

This Reference Material (RM) is intended primarily for use in the analysis of sediments, soils, or materials of a similar matrix. A unit of RM 8704 consists of 50 g of freeze-dried, radiation-sterilized, homogenized, river sediment that is very similar in composition to SRM 2704, Buffalo River Sediment, having been collected at the same time and location (see Source and Preparation of Material).

Reference Concentration Values: Reference values for concentrations of 25 elements are given in Table 1. Reference values are noncertified values that are the best estimate of the true value; however, the values do not meet the NIST criteria for certification and are provided with associated uncertainties that may not include all sources of uncertainty.

Information Concentration Value: An information value for arsenic is provided in Table 2. An information value is a noncertified value for which there is insufficient information to assign an uncertainty.

Expiration of Reference Values: The reference values of RM 8704 are valid, within the measurement uncertainties specified, until **01 January 2008**, provided the RM is handled in accordance with instructions given in this report (see Instructions for Use). The reference values are nullified if the RM is contaminated or otherwise modified.

Maintenance of Reference Values: NIST will monitor this RM over the period of its validity. If substantive changes occur that affect the reference values before expiration, NIST will notify the purchaser. Return of the attached registration card will facilitate notification.

Statistical consultation was provided by W.F. Guthrie of the NIST Statistical Engineering Division.

The overall direction and coordination of the analyses were provided by G.C. Turk of the NIST Analytical Chemistry Division.

Spectrometric measurements were performed by A.P. Lindstrom, G.C. Turk, L.J. Wood, and L.L. Yu of the NIST Analytical Chemistry Division. Instrumental Neutron Activation Analysis was performed by R.R. Greenberg of the NIST Analytical Chemistry Division.

The support aspects involved in the preparation, certification, and issuance of this Standard Reference Material were coordinated through the NIST Standard Reference Materials Program by B.S. MacDonald.

Willie E. May, Chief
Analytical Chemistry Division

Gaithersburg, MD 20899
Report of Investigation Issue Date: 3 March 2000

Thomas E. Gills, Director
Office of Measurement Services

SOURCE, PREPARATION, AND ANALYSIS

Source and Preparation of Material: The river sediment for SRM 2704 Buffalo River Sediment and RM 8704 Buffalo River Sediment was collected from the Buffalo River in the area of the Ohio Street Bridge, Buffalo, NY. The U.S. Army Corps of Engineers, under contract to NIST, collected and screened approximately 908 kg of river sediment and placed it in six 55-gallon, Teflon^{®1}-lined drums. The drums were loaded onto a refrigerated truck and transported to the Technimed Corporation, Fort Lauderdale, FL for freeze-drying of the contents. The freeze-dried sediment was shipped to a laboratory contracted by NIST where it was screened and passed through a 150 µm (100 mesh) sieve and retained on a 38 µm (400 mesh) sieve. The SRM 2704 portion of the freeze-dried sediment was sieved and blended at NIST and subsequently radiation-sterilized, and bottled into 50 g units. The RM 8704 portion of the freeze-dried and sieved sediment was retained for approximately 6 years before being blended, radiation-sterilized, divided by a spinning riffler, and bottled into 50 g units.

Methods of Analysis

Spectrometric Comparison to SRM 2704: Samples weighing approximately 0.25 g were taken from each of 8 bottles of RM 8704 and 8 bottles of SRM 2704. The samples were put into solution using a lithium metaborate fusion procedure. The solutions of the two materials were spectrometrically compared using both inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICPOES). Mass fraction values for 18 elements in RM 8704 were calculated from the relative signal intensities (optical and/or mass spectrometric) of RM 8704 versus SRM 2704 and the certified mass fractions of SRM 2704. ICPMS measurements were made for arsenic, barium, calcium, cadmium, cobalt, chromium, copper, iron, magnesium, nickel, lead, titanium, thallium, uranium, vanadium, and zinc. For some elements ICPMS signals were measured at more than one mass, and the equally-weighted mean value was used as the ICPMS value. ICPOES measurements were made for aluminum, barium, calcium, cobalt, chromium, iron, potassium, magnesium, manganese, sodium, lead, titanium, uranium, vanadium, and zinc. For the elements for which both ICPMS and ICPOES measurements were made, the equally-weighted mean value was used.

Combustion Analysis: Carbon was determined in 8 bottles of RM 8704 and 8 bottles of SRM 2704 at LECO Corporation, Inc. using combustion analysis with infrared detection. In a manner analogous to the spectrometric comparison, the mass fraction of carbon was calculated from the relative carbon signals of RM 8704 versus SRM 2704 and the certified mass fraction of carbon in SRM 2704. The sample size was 0.25 g.

Instrumental Neutron Activation Analysis (INAA): Samples weighing approximately 0.25 g were taken from each of 8 bottles of RM 8704 and 2 bottles of SRM 2704. Using standards prepared from dried filter papers onto which known amounts of the analytes of interest had been deposited, cerium, cobalt, chromium, cesium, europium, iron, hafnium, antimony, scandium, and thorium, were determined by INAA. SRM 2704 was analyzed as a quality control sample.

NOTICE AND WARNINGS TO USERS

Use: A minimum sample weight of 0.25 g (dry weight - see Instructions for Drying) should be used for analytical determinations relating to the reference values on this report of investigation.

Sample preparation procedures should be designed to effect complete dissolution. If volatile elements (i.e., mercury, arsenic, selenium) are to be determined, precautions should be taken in the dissolution of RM 8704 to avoid volatilization losses.

Instructions for Drying: When nonvolatile elements are to be determined, samples should be dried for 2 hours at 110 °C. Volatile elements (i.e., mercury, arsenic, selenium) should be determined on samples as received; separate samples should be dried as previously described to obtain a correction factor for moisture. Correction for moisture is to be made to the data for volatile elements before comparing to the reference values. This procedure, which was used for the determination of the volatile elements, ensures that these elements are not lost during drying. The approximate mass loss on drying has been found to be 0.8 %.

¹ Certain commercial equipment, instruments, or materials are identified in this report to adequately specify the experimental procedure. Such identification does not imply recommendation or endorsement by the NIST, nor does it imply that the materials or equipment identified are necessarily the best available for the purpose.

Table 1. Reference Concentration Values for Selected Elements for RM 8704

| Element | Mass Fraction (%) | | |
|-----------|-----------------------|---|-------|
| Aluminum | 6.10 | ± | 0.18 |
| Calcium | 2.641 | ± | 0.083 |
| Carbon | 3.351 | ± | 0.017 |
| Iron | 3.97 | ± | 0.10 |
| Magnesium | 1.200 | ± | 0.018 |
| Potassium | 2.001 | ± | 0.041 |
| Sodium | 0.553 | ± | 0.015 |
| Titanium | 0.457 | ± | 0.020 |
| Element | Mass Fraction (mg/kg) | | |
| Antimony | 3.07 | ± | 0.32 |
| Barium | 413 | ± | 13 |
| Cadmium | 2.94 | ± | 0.29 |
| Cerium | 66.5 | ± | 2 |
| Cesium | 5.83 | ± | 0.12 |
| Chromium | 121.9 | ± | 3.8 |
| Cobalt | 13.57 | ± | 0.43 |
| Europium | 1.31 | ± | 0.038 |
| Hafnium | 8.4 | ± | 1.5 |
| Lead | 150 | ± | 17 |
| Manganese | 544 | ± | 21 |
| Nickel | 42.9 | ± | 3.7 |
| Scandium | 11.26 | ± | 0.19 |
| Thorium | 9.07 | ± | 0.16 |
| Uranium | 3.09 | ± | 0.13 |
| Vanadium | 94.6 | ± | 4.0 |
| Zinc | 408 | ± | 15 |

Reference Value Uncertainties: The uncertainty in the reference values for aluminum, calcium, potassium, and sodium, derived from spectrometric comparison to SRM 2704 using ICPOES, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guide [1]. 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 the ICPOES measurement uncertainty and the uncertainty of the SRM 2704 certified value. The uncertainty for the SRM 2704 certified value has been recalculated from the original data according to ISO measurement uncertainty guidelines. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

The uncertainty in the reference values for cadmium and nickel, derived from spectrometric comparison to SRM 2704 using ICPMS, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guide [1]. 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 the ICPMS measurement uncertainty and the uncertainty of the certified value of SRM 2704. The uncertainty for the certified value of SRM 2704 has been recalculated from the original data according to ISO measurement uncertainty guidelines. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

The uncertainty in the reference values for magnesium, titanium, barium, manganese, lead, uranium, vanadium, and zinc, derived from spectrometric comparison to SRM 2704 using the equally weighted mean of ICPMS and ICPOES measurements, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guide [1]. 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 the ICPOES measurement uncertainty, the ICPMS measurement uncertainty, and the uncertainty of the SRM 2704 certified value. The uncertainty for the SRM 2704 certified value has been recalculated from the original data according to ISO measurement uncertainty guidelines. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

The uncertainty in the reference values for iron, cobalt, and chromium, derived from the equally weighed mean of a RM 8704

spectrometric comparison to SRM 2704 (using both ICPMS and ICPOES) and an independent INAA analysis, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guide [1]. 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 the uncertainty in the spectrometric comparison (which includes ICPMS measurement uncertainty, ICPOES measurement uncertainty, and the uncertainty of the SRM 2704 certified value), the uncertainty of the INAA measurement, and the uncertainty of corrections for method biases [2]. The uncertainty for the SRM 2704 certified value has been recalculated from the original data according to ISO measurement uncertainty guidelines. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

The uncertainty in the reference values of cerium, cesium, europium, hafnium, antimony, scandium, and thorium, derived from INAA analysis alone, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guide [1]. The expanded uncertainty is calculated as $U = ku_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the uncertainty of the INAA measurements. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

The uncertainty in the reference value of carbon, derived from comparison to SRM 2704 using combustion analysis, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guide [1]. 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 the combustion analysis measurement uncertainty and the uncertainty of the SRM 2704 certified value. The uncertainty for the SRM 2704 certified value has been recalculated from the original data according to ISO measurement uncertainty guidelines. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

Table 2. Information Concentration Value for Arsenic for RM 8704

| Element | Mass Fraction (mg/kg) |
|---------|-----------------------|
| Arsenic | 17 |

Information Value for Arsenic: This information value was determined by spectrometric comparison to SRM 2704 using ICPMS after adjusting the certified value of arsenic in SRM 2704 downward by 6 %. The adjustment is based on measurements made at NIST since 1996, that indicate the certified value for SRM 2704 is no longer valid due to a loss of approximately 6 % of the arsenic from SRM 2704. The arsenic value in RM 8704 is given for information only because there is insufficient information to assign an uncertainty.

REFERENCES

- [1] *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*, ISBN 92-67-10188-9, 1st Ed. ISO, Geneva, Switzerland, (1993); see also Taylor, B.N. and 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).
- [2] Levenson, M.S., et al, "An ISO GUM Approach to Combining Results from Multiple Methods," unpublished manuscript.

Users of this RM should ensure that the report of investigation in their possession is current. This can be accomplished by contacting the SRM Program at: Phone (301) 975-6776 (select "Certificates"), Fax (301) 926-4751, e-mail srminfo@nist.gov, or via the Internet <http://ts.nist.gov/srm>.



Certificate of Analysis

Standard Reference Material[®] 1577c

Bovine Liver

Standard Reference Material (SRM) 1577c consists of tissue derived from healthy steers. The material was collected and prepared under strict protocols designed to preserve the original composition, and to minimize contamination. SRM 1577c is intended primarily for use in evaluating the accuracy of analytical methods for selected elements in animal tissues and other biological materials. A unit of the SRM consists of one bottle containing 20 g of freeze-dried liver powder.

Certified Values: Certified values for the mass fraction content of 20 elements are provided in Table 1. The certified values are based on results from either a primary analytical technique carried out at NIST, or the combined results from two or more chemically independent analytical techniques obtained at NIST and collaborating expert laboratories [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].

Reference Values: Reference values for the mass fraction content of eight additional elements are provided in Table 2. Reference values are non-certified values that are the best estimates of the true values. However, the values do not meet the 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].

Information Values: Information values for the mass fraction content of two elements are provided in Table 3. 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 is a value derived from a limited number of analyses [1].

Expiration of Certification: The certification of **SRM 1577c** is valid, within the measurement uncertainties specified, until **01 October 2018**, provided the SRM is handled in accordance with the 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. Return of the attached registration card will facilitate notification.

The coordination of the investigations and technical measurements leading to the certification of this material was under the leadership of R. Zeisler of the NIST Analytical Chemistry Division.

Consultation on the statistical design of the experimental work and evaluation of the data was provided by S.D. Leigh of the NIST Statistical Engineering Division.

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

Stephen A. Wise, Chief
Analytical Chemistry Division

Gaithersburg, MD 20899
Certificate Issue Date: 15 June 2009

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

Collection and preparation of SRM 1577c were performed by M.P. Cronise and C.N. Fales of the NIST Measurement Services Division, and E.A. Mackey, R.O. Spatz, and R. Zeisler of the NIST Analytical Chemistry Division. The bovine liver material was collected at Texas A&M University (College Station, TX) with the assistance of W.D. James of the Center for Chemical Characterization and Analysis, and R.R. Riley of the E.M. (Manny) Rosenthal Meat Science and Technology Center.

The technical measurements were performed by S.J. Christopher, R.R. Greenberg, S.E. Long, E.A. Mackey, K.E. Murphy, B.J. Porter, S.A. Rabb, R.O. Spatz, B.E. Tomlin, L.J. Wood, L.L. Yu, and R. Zeisler of the NIST Analytical Chemistry Division, and the following collaborating laboratories and analysts: China Institute of Atomic Energy, Beijing, China: C. Xiao, B. Ni, W. Tian; Massachusetts Institute of Technology, Nuclear Reactor Laboratory, Cambridge, MA: J. Che, L.-W. Hu; Nuclear Physics Institute ASCR, Řež, Czech Republic: J. Kučera; Texas A&M University, College Station, TX, Department of Chemistry: W.D. James and College of Veterinary Medicine: R.J. Taylor; University of São Paulo, Institute of Chemistry, São Paulo, Brazil: C.S. Nomura, P.V. Oliveira; and USDA Beltsville Agricultural Research Center, Human Nutrition Research Center, Beltsville, MD: J. Harnly, E. Greene.

NOTICE AND WARNING TO USERS¹

Storage: The material should be stored in its original container at room temperature (10 °C to 30 °C). SRM 1577c should not be exposed to intense sources of radiation, including ultraviolet light from lamps or sunlight.

Handling: This material was derived from healthy steers. These animals were inspected by a Veterinary Medical Officer and did not show signs of infectious, contagious, and/or communicable disease. Normal caution and care should be exercised during the material's handling and use. Users should be aware of sources of contamination. To avoid contamination a Class 100 clean-air environment is recommended.

Instructions for Use: Prior to removal of test portions for analysis, the contents of the bottles should be mixed. **The recommended minimum size is 100 mg;** see "Homogeneity Assessment" below. The mass fractions of constituents in SRM 1577c are reported on a dry-mass basis. Desiccator drying over CaSO₄ (e.g., Drierite) to stable mass (approximately 10 days) is recommended.

PREPARATION AND ANALYSIS

Sample Collection and Preparation: The liver tissue was collected and processed under observation of principles for "true and representative" sampling as documented in the protocols for human and marine mammal tissues of the National Biomonitoring Specimen Bank [2]. The liver tissue was harvested from 31 steers that were slaughtered at Texas A&M University College of Veterinary Medicine. This material is intended for "in vitro" diagnostic use only. The supplier of this material has reported that this material was produced under sanitary conditions and was derived from clinically healthy animals. The animals were slaughtered for the purpose of teaching bovine anatomy and how to butcher. The meat from these animals was prepared for retail under the supervision of a State of Texas meat inspector to ascertain the health of the animals. The livers were excised whole, placed on a clean Teflon sheet, and inspected. Each liver was rinsed with HPLC-grade water to remove excess blood, bile, and any other extraneous material. The outer membrane and major blood vessels were removed with titanium blade knives, and the tissue was cut into portions of approximately 10 cm³; 120 kg of fresh tissue was obtained from this process, frozen in clean Teflon bags, and then shipped to NIST. The tissue was thawed and homogenized at NIST with a food processor equipped with titanium blades. The resulting paste was poured into glass trays, frozen, and lyophilized. The dry material was blended again in the food processor before being jet-milled. The resulting fine powder was radiation sterilized and bottled.

Homogeneity Assessment: The homogeneity of SRM 1577c was assessed by analyzing test portions of approximately 100 mg with high-precision instrumental neutron activation analysis (INAA).

Twelve bottles were randomly selected from the lot and two 100 mg test portions were taken for INAA from different locations in each bottle. The results for all elements reported by INAA (see Tables 1 and 2) did not reveal

¹ Certain commercial equipment, instruments, or materials are identified in this report to specify adequately 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.

any significant components of uncertainty due to heterogeneity; therefore **the recommended minimum sample size is 100 mg**. The values and uncertainties reported in this Certificate are valid for a 100 mg minimum sample size. Analysis of smaller amounts may be subject to additional uncertainties due to heterogeneity.

Analyses with solid-sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry (SS-GFAAS) using test portions in the range of 20 µg to 70 µg showed homogeneity for distribution of Cd, Cu, Pb, and Zn within the uncertainty of the method. For 1 mg test portions, an uncertainty component from heterogeneity of 1 % to 2 % relative was estimated from the experimental data for these elements.

Analytical Approach: All elements for which certified and reference values are provided were determined by using at least one of the following methods carried out at NIST: INAA, radiochemical neutron activation analysis (RNAA), prompt gamma activation analysis (PGAA), pre-concentration and pre-separation neutron activation analysis (PNAA), inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), and ICP optical emission spectrometry (ICP-OES). NIST values for Cd, Pb, and Se were obtained by using isotope dilution (ID) ICP-MS, and for Hg by isotope dilution cold vapor (ID/CV) ICP-MS. The measurements were complemented by results provided by collaborating scientists from research laboratories using ICP-MS, ICP-OES, INAA, RNAA, and SS-GFAAS.

Certified Values and Uncertainties: Certified values were derived from the NIST analytical results and the results provided by collaborating laboratories. The uncertainty listed with each value is an expanded uncertainty, with coverage factor 2 (approximately 95 % confidence). The reporting follows the ISO Guide to the Expression of Uncertainty in Measurements [3,4,5].

For each element, there is a NIST result with an uncertainty that is complete in terms of coverage of recognized sources of uncertainties. Except for the elements measured by a single NIST primary method, these results are combined with results with similarly complete uncertainties from collaborating laboratories, and in certain cases several results without complete uncertainties. The uncertainties of these results were augmented for probable bias on the basis of the differences among the results obtained by different methods [3].

Table 1. Certified Values for Mass Fractions (on a Dry-Mass Basis) of Selected Elements

| Element | Unit | Mass Fraction | Element | Unit | Mass Fraction |
|---------------------------|-------|---------------|-----------------------------|-------|-----------------|
| Ag ^(A,B,b,C) | µg/kg | 5.9 ± 1.6 | Mn ^(A,a,b,D,d) | mg/kg | 10.46 ± 0.47 |
| As ^(C) | µg/kg | 19.6 ± 1.4 | Mo ^(A,a,b,C,D,d) | mg/kg | 3.30 ± 0.13 |
| Ca ^(A,a,D,d) | mg/kg | 131 ± 10 | Na ^(A,a,d) | % | 0.2033 ± 0.0064 |
| Cd ^(C,E) | µg/kg | 97.0* ± 1.4 | Ni ^(B,b,c) | µg/kg | 44.5 ± 9.2 |
| Co ^(A,a,b) | mg/kg | 0.300 ± 0.018 | Pb ^(E) | µg/kg | 62.8 ± 1.0 |
| Cr ^(A) | µg/kg | 53 ± 14 | S ^(a,D,d,F) | % | 0.749 ± 0.034 |
| Cu ^(A,a,C,D,d) | mg/kg | 275.2 ± 4.6 | Se ^(A,E) | mg/kg | 2.031 ± 0.045 |
| Fe ^(A,a,D) | mg/kg | 197.94 ± 0.65 | Sr ^(B,b,d) | µg/kg | 95.3 ± 4.2 |
| K ^(A,a,d,F) | % | 1.023 ± 0.064 | V ^(c,d,G) | µg/kg | 8.17 ± 0.66 |
| Mg ^(A,a,D,d) | mg/kg | 620 ± 42 | Zn ^(A,a,D,E,h) | mg/kg | 181.1 ± 1.0 |

*Alternate statistical method [6]

Analytical techniques used for assignment of certified values; capital letters indicate that the method was used by NIST.

- (A,a) Instrumental neutron activation analysis (INAA)
- (B,b) Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)
- (C,c) Radiochemical neutron activation analysis (RNAA)
- (D,d) Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES)
- (E) Isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry (ID ICP-MS)
- (F) Prompt gamma activation analysis (PGAA)
- (G) Pre-concentration pre-separation neutron activation analysis (PNAA)
- (h) Solid-sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry (SS-GFAAS)
- (I) Isotope dilution cold vapor inductively coupled plasma mass spectrometry (ID/CV ICP-MS)

Reference Values and Uncertainties: Reference values are based on results from one method carried out at NIST or at NIST and in several collaborating laboratories. The methods of combining the results of different methods from different laboratories were applied as above. These results do not fulfill the criteria for certification because they lack a full estimate of method bias. The reporting follows the ISO Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement [5].

Table 2. Reference Values for Mass Fractions (on a Dry-Mass Basis) of Selected Elements

| Element | Unit | Mass Fraction | Element | Unit | Mass Fraction |
|---------------------|-------|---------------|---------------------|-------|---------------|
| Cl ^(A,a) | % | 0.287 ± 0.013 | N ^(F) | % | 10.30 ± 0.34 |
| Cs ^(A,a) | µg/kg | 21.7 ± 1.4 | P ^(D,d) | % | 1.175 ± 0.027 |
| H ^(F) | % | 7.35 ± 0.24 | Rb ^(A,a) | mg/kg | 35.3 ± 1.1 |
| Hg ^(I) | µg/kg | 5.36 ± 0.17 | Sb ^(a,C) | µg/kg | 3.13 ± 0.31 |

Note: Analytical techniques used for assignment of reference values are provided following Table 1.

Information Values: Information values are given to assist users in the assays of two non-certified elements that may be of interest in method development and other investigations. These information values are based on results that did not allow complete assessment of all sources of uncertainty.

Table 3. Information Values for Mass Fractions (on a Dry-Mass Basis) of Selected Elements

| Element | Unit | Mass Fraction |
|-------------------|-------|---------------|
| Li ^(d) | µg/kg | 12 |
| Si ^(d) | mg/kg | 6 |

Note: Analytical techniques used for assignment of information values are provided following Table 1.

SUPPLEMENTAL INFORMATION

Particle size:

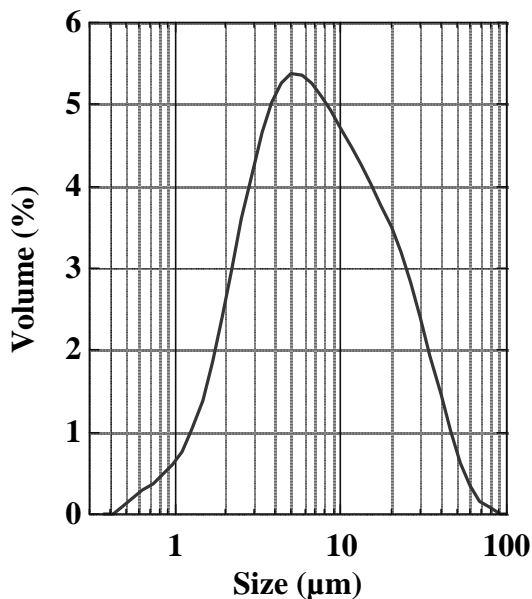


Figure 1. Particle size distributions in SRM 1577c determined in aqueous suspension via laser light scattering instrumentation (Malvern Mastersizer 2000). Calculated 10, 50, and 90 percentile particle sizes (percent volume of particles smaller than the value) for SRM 1577c are: $d_{0.1} = 2.31 \mu\text{m}$, $d_{0.5} = 7.57 \mu\text{m}$, $d_{0.9} = 28.5 \mu\text{m}$. Uncertainties in these values are estimated at $\pm 10\%$ relative (2s).

REFERENCES

- [1] May, W.E., Gills, T.E., Parris, R., Beck, II, C.M., Fassett, J.D., Gettings, R.J., Greenberg, R.R., Guenther, F.R., Kramer, G., MacDonald, B.S., and Wise, S.A., *Definitions of Terms and Modes Used at NIST for Value-Assignment of Reference Materials for Chemical Measurements*, NIST Special Publication 260-136, (1999); available at <http://ts.nist.gov/MeasurementServices/ReferenceMaterials/upload/SP260-136.PDF>.
- [2] Zeisler, R., *The Sampling and Analysis of Human Livers*, J. Res. Nat. Bur. Stand., 91 (1986) 75-85.
- [3] Levenson, M.S., Banks, D.L., Eberhardt, K.R., Gill, L.M., Guthrie, W.F., Liu, H.K., Vangel, M.G., Yen, J.H., and Zhang N.F., *An Approach to Combining Results from Multiple Methods Motivated by the ISO GUM*, J. Res. Nat. Inst. Stand. Technol. 105, (2000), 571-579.
- [4] Rukhin, A.L., Vangel, M.G., *Estimation of a Common Mean and Weighted Means Statistics*, J. Am. Stat. Assoc. 93, (1998), 301-308.
- [5] *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*, ISBN 92-67-10188-9, 1st Ed. ISO, Geneva, Switzerland, (1993): see also Taylor, B.N. and 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://physics.nist.gov/Pubs/>.
- [6] Schiller, S. and Eberhardt, K., *Combining Data from Independent Chemical Analysis Methods*, *Spectrochim. Acta*, 46B, (1991), 1607-1613.

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>.



National Institute of Standards & Technology

Certificate of Analysis

Standard Reference Material 1486

Bone Meal

This Standard Reference Material (SRM) is intended primarily for use in evaluating analytical methods used for the determination of selected major, minor, and trace elements in bone and in material of a similar matrix. It consists of steamed bone meal that was sieved and blended to a high degree of homogeneity.

The base material for this SRM was obtained from a commercial supplier. The entire material lot was sieved through a nominal 355 μm sieve (45 mesh), blended in the NIST cone blender, radiation sterilized and bottled into units of 50 g.

Certified and Non-certified Concentrations of Constituent Elements: The certified concentrations of the constituent elements are shown in Table 1. These concentrations are based on the results of a definitive analytical method or the agreement of results by at least two independent methods. Non-certified concentrations, for information only, are provided in Table 2.

NOTICE AND WARNINGS TO USERS:

Expiration of Certification: This certification is valid for five years from the date of shipment. Should any of the certified values significantly change before then, purchasers will be notified by NIST. Please return the attached registration form to facilitate notification.

Storage: The material should be kept tightly closed in its original bottle away from sunlight or ultraviolet radiation.

Use: The bottle should be mixed well by rotating the bottle before each use. Samples of this SRM should be dried under vacuum for 24 h or for 2 h at 105 °C in a conventional drying oven. A minimum sample of 150 mg of the dried material should be used to relate analytical determinations to the certified values in this certificate.

Dissolution Procedure: Samples may be dissolved by heating with hydrofluoric and nitric acids, followed by heating to dryness with perchloric acid, cooling, and adding dilute nitric acid.

Coordination of the analyses was performed by W.F. Koch of the NIST Inorganic Analytical Research Division.

Statistical analysis of the experimental data was performed by S.B. Schiller and L.M. Oakley of the NIST Statistical Engineering Division.

The technical and support aspects involved in the certification and issuance of this SRM were coordinated through the Standard Reference Materials Program by R. Alvarez and T.E. Gills.

Gaithersburg, MD 20899
December 18, 1992

William P. Reed, Chief
Standard Reference Materials Program

(over)

Material Source: The material for this SRM was obtained from the Espoma Company, Millville, NJ.

Homogeneity Assessment: Samples from randomly selected bottles of SRM 1486 were tested for homogeneity using x-ray fluorescence spectrometry. No evidence of material heterogeneity was observed in any of the elements measured which included strontium, zinc, copper, iron, phosphorus, calcium, and potassium.

Certified Concentrations and Uncertainties: The certified value is the weighted mean of method results from a definitive analytical method or the weighted mean of results from at least two independent analytical methods or laboratories. The uncertainty is the half-width of a 95% confidence interval for the mean, with an allowance for systematic differences between methods.

Table 1. Certified Concentrations of Constituent Elements

| <u>Element</u> | <u>Concentration,</u> <u>wt. percent</u> | | <u>Element</u> | <u>Concentration</u> <u>μg/g</u> | |
|----------------|---|---------|----------------|-------------------------------------|---------|
| Calcium | 26.58 | ± 0.24 | Iron | 99 | ± 8 |
| Magnesium | 0.466 | ± 0.017 | Lead | 1.335 | ± 0.014 |
| Phosphorus | 12.30 | ± 0.19 | Potassium | 412 | ± 4 |
| | | | Strontium | 264 | ± 7 |
| | | | Zinc | 147 | ± 16 |

Non-certified Concentrations: Elements other than those certified are present in this material. Those that were determined but not certified are provided as additional information on the composition.

Table 2. Non-certified Concentrations of Constituent Elements

| <u>Element</u> | <u>Concentration,</u> <u>wt. percent</u> | <u>Element</u> | <u>Concentration</u> <u>μg/g</u> |
|------------------|---|----------------|-------------------------------------|
| Silicon | (<0.02) | Aluminum | (<1) |
| Sodium | (0.5) | Arsenic | (0.006) |
| Carbon (Total) | (18.6) | Cadmium | (0.003) |
| Moisture | | Copper | (0.8) |
| 2 h @ 105 °C | (2.4) | Fluorine | (800) |
| ----- | | Manganese | (1) |
| Loss in Ignition | | Selenium | (0.13) |
| @ 1000 °C | (31.5) | | |

Table 3. Methods and Analysts for Certified Elemental Determinations

| <u>Element</u> | <u>Method Code</u> | <u>Element</u> | <u>Method Code</u> |
|----------------|----------------------|----------------|--------------------|
| Calcium | GRAV INAA TITR | Potassium | FAES IDTIMS |
| Iron | ICP IDTIMS | Strontium | FAES IDTIMS |
| Magnesium | INAA IDICPMS | Phosphorus | GRAV ICP |
| | | Lead | IDTIMS |
| | | Zinc | ICP IDTIMS |

Methods Used for Analysis of SRM 1486:

FAAS = Flame Atomic Absorption Spectrometry
 FAES = Flame Atomic Emission Spectrometry
 ICP = Inductively-Coupled Plasma Emission Spectrometry
 ID ICPMS = Isotope Dilution, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
 ID TIMS = Isotope Dilution, Thermal Ionization Mass Spectrometry
 INAA = Instrumental Neutron Activation Analysis
 RNAA = Radiochemical Neutron Activation Analysis
 TITR = Titrimetry
 XRF = X-ray Fluorescence Spectrometry
 GRAV = Gravimetry

Analysts, National Institute of Standards and Technology

| | |
|--------------------------------|--------------|
| D.S. Braverman | P.A. Pella |
| R. Demiralp (Guest Researcher) | T.A. Rush |
| J.D. Fassett | J.M. Smeller |
| K.M. Garrity | S.F. Stone |
| R.R. Greenberg | T.W. Vetter |
| J.R. Moody | R.D. Vocke |
| P.J. Paulsen | L.J. Wood |

Cooperating Analysts

A.R. Byrne, Jozef Stefan Institute, Ljubljana, Slovenia, Yugoslavia.

N. Miller-Ihli, Nutrient Composition Laboratory, U.S. Department of Agriculture, Beltsville, MD.

J.B. Bodkin, College of Earth and Mineral Sciences, Mineral Characterization Laboratory, The Pennsylvania State University, University Park, PA.

ANEXO D



National Research
Council Canada

Conseil national
de recherches Canada

DORM-2

Dogfish Muscle Certified Reference Material for Trace Metals

The following table shows those elements for which certified values have been established for the dogfish (*Squalus acanthias*) reference material. Certified values are based on results of determinations by at least two independent methods of analysis. The uncertainties represent 95 percent tolerance limits for an individual sub-sample of 250 mg or greater.

TRACE ELEMENTS (milligrams/kilogram)

| | | | |
|------------------------------------|----------|---|-------|
| Aluminum (d,g,i) | 10.9 | ± | 1.7 |
| Arsenic (d,g,h,x) | 18.0 | ± | 1.1 |
| Cadmium (g,p) | 0.043 | ± | 0.008 |
| Cobalt (d,g) | 0.182 | ± | 0.031 |
| Chromium (g,i,p) | 34.7 | ± | 5.5 |
| Copper (g,i,p,x) | 2.34 | ± | 0.16 |
| Iron (g,i,p,x) | 142 | ± | 10 |
| Lead (g,p) | 0.065 | ± | 0.007 |
| Manganese (d,g,i) | 3.66 | ± | 0.34 |
| Mercury (c,p) | 4.64 | ± | 0.26 |
| Nickel (g,i,p) | 19.4 | ± | 3.1 |
| Selenium (g,p) | 1.40 | ± | 0.09 |
| Silver (g,p) | 0.041 | ± | 0.013 |
| Thallium (p) | (0.004)* | | |
| Tin (p) | (0.023)* | | |
| Zinc (f,g,i,p) | 25.6 | ± | 2.3 |
| | | | |
| Methylmercury (as Hg) (e,t) | 4.47 | ± | 0.32 |
| | | | |
| Arsenobetaine (as As) (l,m) | 16.4 | ± | 1.1 |
| | | | |
| Tetramethylarsonium (as As) (l) | 0.248 | ± | 0.054 |

* information value only

Coding

The coding refers only to the ultimate method of analyte determination. No mention is made here regarding the various methods of sample preparation, decomposition and possible analyte separation prior to determination within each coded method.

- c - Cold vapour atomic absorption spectrometry.
- d - Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS)
- e - Cold vapour microwave induced plasma atomic emission spectrometry
- f - Flame atomic absorption spectrometry.
- g - Graphite furnace atomic absorption spectrometry.
- h - Hydride generation atomic absorption spectrometry.
- i - Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry.
- l - High-performance liquid chromatography ICPMS
- m - Ion spray mass spectrometry
- p - Isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry.
- t - Gas chromatography - electron capture detection
- x - X-ray fluorescence spectrometry

This reference material is primarily intended for use in the calibration of procedures and the development of methods used for the analysis of marine animals and materials with a similar matrix.

There appear to be elevated concentrations of iron, chromium and nickel in DORM-2 indicating the possible contamination of this material by stainless steel during its preparation. The mercury concentration of this certified reference material (CRM) is also relatively high but it is almost all organomercury and was probably in the dogfish muscle to start with.

Storage and Sampling

This material should be kept tightly closed in the original bottle and should be stored in a cool location, away from any intense radiation sources such as ultraviolet lamps and sunlight. The bottle should be well mixed by rotation and shaking prior to use, and tightly closed immediately thereafter.

Homogeneity

This material was tested for homogeneity at the National Research Council (NRC) in Ottawa. Also, randomly selected bottles were used for the analytical determinations by the NRC laboratory and the collaborating laboratories.

Results from different bottles indicated no significant differences compared to results from sub-samples within bottles. It is assumed, then, that all bottles of this material is essentially of the same composition. The homogeneity is warranted by NRC for samples of 250 mg weight and above for the elements listed on the first page. There is other evidence which supports homogeneity for some of the analytes down to the level of 25 mg samples.

Instructions for Drying

DORM-2 can be dried to constant weight by:

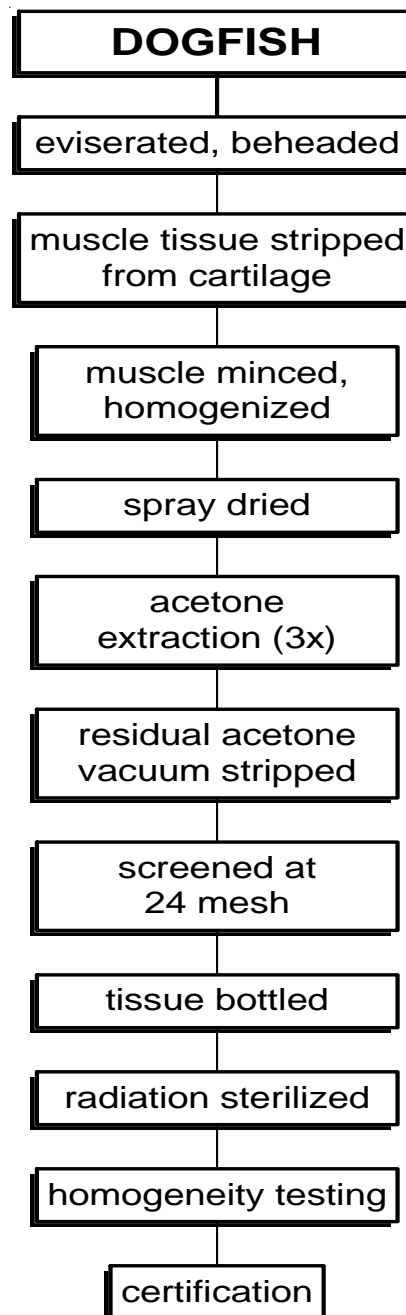
- (1) drying at reduced pressure (e.g. 50 mm Hg) at room temperature in a vacuum desiccator over magnesium perchlorate for 24 hours.
- (2) vacuum drying (about 0.5 mm Hg) at room temperature for 24 hours.

Both of these methods were used to obtain a conversion factor to produce the "dry weight" results listed on the first page.

Preparation of Materials

This reference material was processed at the Canadian Institute for Fisheries Technology, Technical University of Nova Scotia, Halifax. The preparation scheme is described below in the schematic drawing.

The procedure does not result in totally defatted materials. DORM-2 contains about 5 percent fat.



Stability

The predecessor CRM, DORM-1 has been periodically analyzed for more than fifteen years and has been both physically and chemically stable over that time. We expect similar behaviour from DORM-2.

Acknowledgements

This material was prepared following the advice of the NRC Committee on Marine Analytical Chemistry. The guidance of the members of the Committee is much appreciated.

These members of staff of the Institute for National Measurement Standards, National Research Council of Canada, participated in the analyses: S. Berman, V.J. Boyko, V.P. Clancy, J. Lam, P. Maxwell, J.W. McLaren, B. Methven, K.W.M. Siu and S. Willie.

The cooperation of the following in the preparation and analysis of these materials is gratefully acknowledged: E.G. Bligh, I. Britt and C.H. Hotton, Canadian Institute of Fisheries Technology, Technical University of Nova Scotia, Halifax, Nova Scotia.

E. Crecelius, B. Lasorsa, R.W. Sanders, C. Anderson and M. Deuth
Marine Science Laboratories, Battelle Pacific Northwest, Sequim, Washington.

B. Presley and P. Boothe,
Department of Oceanography,
Texas A&M University, College Station, Texas.

D.C. Baxter, H. Emteborg and W. Frech,
Department of Chemistry, University of Umeå,
S-901 87 Umeå, Sweden.

J.J. Corr,
MDS Sciex, Concord, Ontario.

W. Goessler, D. Kuehnelt, C. Schlagenhaufen,
Z. Slejkovec, K. Irgolic,
Institute for Analytical Chemistry
KF-University, Graz, Austria.

Updates

It is anticipated that as more data become available the established values may be updated and reliable values assigned to more elements.

Our web site at http://inms-ienm.nrc-cnrc.gc.ca/calserv/chemical_metrology_e.html will contain any new information.

Date of issue: January 1993

organoarsenic compounds certified: September 1999

Date of expiry: January 2010

The results listed in this certificate are traceable to the SI through gravimetrically prepared standards of established purity and international measurement intercomparisons. As such, they serve as suitable reference materials for laboratory quality assurance programs, as outlined in ISO/IEC 17025. This CRM is registered at the Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) in Appendix C of the Comité International des Poids et Mesures database listing Calibration and Measurement Capabilities accepted by signatories to the Mutual Recognition Arrangement of the Metre Convention.

Comments, information and inquiries should be addressed to:

Dr. R.E. Sturgeon
National Research Council of Canada
Institute for National Measurement Standards
M-12, Montreal Road
Ottawa, Ontario, Canada K1A 0R6

Telephone (613) 993-2359
Facsimile (613) 993-2451
E-mail crm.inms@nrc-cnrc.gc.ca

Également disponible en français sur demande.

ANEXO E



National Institute of Standards & Technology

Certificate of Analysis

Standard Reference Material® 1568a

Rice Flour

This Standard Reference Material (SRM) is intended primarily for calibrating instruments and evaluating the reliability of analytical methods for the determination of minor and trace elements in rice flour and similar agricultural food products. A unit of SRM 1568a consists of 80 g of material.

The certified values for seventeen elements are shown in Table 1. Except for sulfur, the values are based on results obtained by two or more independent analytical methods. Sulfur is certified based on its determination by a single method. Noncertified values, which are given for information only, appear in Table 2. Analytical methods used for the characterization of this SRM are given in Table 3. All values are reported as mass fractions [1], on a dry mass basis and are based on measurements using a sample mass of at least 500 mg.

NOTICE AND WARNINGS TO USERS

Expiration of Certification: The certified values for SRM 1568a are valid for five years from the date of shipment from NIST. Should any of the values change before the expiration of the certification, purchasers will be notified by NIST.

Storage: The material should be kept in its original bottle and stored at temperatures between 10 °C to 30 °C. It should not be exposed to intense sources of radiation, including ultraviolet lamps or sunlight. Ideally, the bottle should be kept in a desiccator, in the dark, and within the temperature range indicated.

Use: The bottle should be shaken well before each use. A minimum sample mass of 500 mg (dry mass - see Instructions for Drying) should be used and sample preparation procedures should be designed to effect complete dissolution for analytical determinations to be related to the certified values provided. If volatile elements (e.g. arsenic, mercury, selenium) are to be determined, precautions should be taken in the dissolution of the SRM to avoid volatilization losses.

Instructions for Drying: When nonvolatile elements are to be determined, samples should be vacuum dried at approximately 25 °C for 24 h at a pressure not greater than 70 Pa with a cold trap at a temperature of -30 °C or below. Volatile elements should be determined on undried samples; separate samples should be dried according to these instructions to obtain a correction factor for moisture. Moisture corrections are then made to measurement values before comparing them to the certified values. (**Note:** the moisture content at the time of bottling was approximately 8 %).

The technical and support aspects involved in the preparation, certification, and issuance of this SRM was coordinated through the Standard Reference Material Program by R. Alvarez. Revision of this certificate was coordinated through the Standard Reference Materials Program by J.C. Colbert.

This Certificate of Analysis has undergone editorial revision to reflect program and organizational changes at NIST and at the Department of Commerce. No attempt was made to reevaluate the certificate values or any technical data presented on this certificate.

Gaithersburg, MD 20899
August 15, 1995
(Revision of certificate dated 1-20-88)

Thomas E. Gills, Chief
Standard Reference Materials Program

Coordination of the analyses leading to the certification of this SRM was performed by M.S. Epstein of the NIST Analytical Chemistry Division.

Statistical analysis of the experimental data was performed by K.R. Eberhardt of the NIST Statistical Engineering Division.

Preparation of Material: The rice flour for this SRM was described by the supplier as 100 % long grain from Arkansas. At NIST, the material was passed through a 425 μm (No. 40) sieve and blended. The bottled material was then radiation sterilized at Neutron Products, Inc., Dickerson, MD.

Homogeneity Assessment: A preliminary evaluation of the homogeneity was made by instrumental neutron activation (INAA) using samples of approximately 500 mg. The uncertainties for the certified values in Table 1 incorporates these results.

Certified Values and Uncertainties: The certified mass fractions are the weighted means computed according to the procedure described in reference [2]. The uncertainty is stated as a 95 % confidence interval plus an additional allowance for systematic error among the methods used. The allowance for systematic error is the greatest difference between the weighted mean and the component means for the analytical methods used. For manganese, an additional allowance for material inhomogeneity is included, so that the uncertainty represents a 95 % expected coverage statistical tolerance interval.

Table 1. Certified Mass Fractions (w_B)

Minor Elements

| Element | w_B (in %) |
|------------|---------------------|
| Calcium | 0.0118 \pm 0.0006 |
| Magnesium | 0.056 \pm 0.002 |
| Phosphorus | 0.153 \pm 0.008 |
| Potassium | 0.1280 \pm 0.0008 |
| Sulfur | 0.120 \pm 0.002 |

Trace Elements

| Element | w_B (in mg/kg) | Element | w_B (in mg/kg) |
|-----------|-------------------|------------|---------------------|
| Aluminum | 4.4 \pm 1.0 | Mercury | 0.0058 \pm 0.0005 |
| Arsenic | 0.29 \pm 0.03 | Molybdenum | 1.46 \pm 0.08 |
| Cadmium | 0.022 \pm 0.002 | Rubidium | 6.14 \pm 0.09 |
| Copper | 2.4 \pm 0.3 | Selenium | 0.38 \pm 0.04 |
| Iron | 7.4 \pm 0.9 | Sodium | 6.6 \pm 0.8 |
| Manganese | 20.0 \pm 1.6 | Zinc | 19.4 \pm 0.5 |

Table 2. Noncertified Mass Fractions (w_B)

| Trace Elements | | | |
|----------------|------------------|----------|------------------|
| Element | w_B (in mg/kg) | Element | w_B (in mg/kg) |
| Antimony | 0.0005 | Lead | <0.010 |
| Bromine | 8 | Tin | 0.0047 |
| Chlorine | 300 | Tungsten | 0.0012 |
| Cobalt | 0.018 | Uranium | 0.0003 |
| Iodine | 0.009 | Vanadium | 0.007 |

The values shown in this table are not certified because they are not based on the results of either two or more independent reliable methods or a definitive method of known high accuracy. These values are included for information only and therefore no uncertainty limits are provided.

Table 3. Methods used for the analyses of SRM 1568a

| Methods | Elements |
|-------------------------|------------|
| DCP, INAA | Aluminum |
| Hyd-AAS, INAA | Arsenic |
| ETAAS, RNAA | Cadmium |
| FAAS, FES | Calcium |
| FAAS, INAA, RNAA | Copper |
| FAAS, IDMS, INAA | Iron |
| FAAS, FES, INAA | Magnesium |
| FAAS, INAA | Manganese |
| FIA-CV-AAS, RNAA | Mercury |
| ICP-AES, ID-ICPMS, INAA | Molybdenum |
| FES, ICP-AES, SPECTRO | Phosphorus |
| FES, INAA | Potassium |
| FES, INAA | Rubidium |
| Hyd-AAS, INAA | Selenium |
| FES, INAA | Sodium |
| IDMS | Sulfur |
| FAAS, INAA | Zinc |

Methods

| | |
|------------|--|
| DCP | Direct current plasma atomic emission spectrometry |
| ETAAS | Heated graphite atomizer (electrothermal) atomic absorption spectrometry |
| FAAS | Flame atomic absorption spectrometry |
| FES | Flame emission spectrometry |
| FIA-CV-AAS | Flow injection analysis cold vapor or atomic absorption spectrometry |
| Hyd-AAS | Hydride generation atomic absorption spectrometry |
| ICP-AES | Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry |
| IDMS | Isotope dilution mass spectrometry |
| ID-ICPMS | Isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry |
| INAA | Instrumental neutron activation analysis |
| RNAA | Radiochemical neutron activation analysis |
| SPECTRO | Spectrophotometry |

NIST Analysts

| | |
|----------------|------------------|
| E.S. Beary | J.R. Moody |
| T.A. Butler | P.J. Paulsen |
| M.S. Epstein | T.C. Rains |
| J.D. Fassett | T.A. Rush |
| R.R. Greenberg | S.F. Stone |
| L.B. Jassie | R.L. Jr. Watters |
| W.R. Kelly | L.J. Wood |
| H.M. Kingston | |

Cooperating Analysts and Laboratories

N.J. Miller-Ihli, Beltsville Human Nutrition Center, U.S. Department of Agriculture, Beltsville, MD.
A.R. Byrne, M. Dermelj, and A. Vakselj, Institut "Jozef Stefan" Ljubljana, Yugoslavia.

REFERENCES

- [1] Taylor, B.N., Guide for the Use of the International System of Units (SI), NIST Special Publication 811, 1995 Ed., (April 1995).
- [2] Paule, R.C. and Mandel, J., NBS Journal of Research, **87**, 377-385, (1982).

ANEXO F



National Institute of Standards & Technology

Certificate of Analysis

Standard Reference Material® 1573a

Tomato Leaves

This Standard Reference Material (SRM) is intended primarily for use in evaluating the reliability of analytical methods for the determination of major, minor, and trace elements in botanical materials, agricultural food products, and materials of similar matrix. A unit of SRM 1573a consists of 50 g of dried tomato leaves.

Certified and Noncertified Values of Constituent Elements: The certified values of the constituent elements are given in Table 1. These values are based on the agreement of results from at least two independent analytical methods or the mean of results from a method of known accuracy. Noncertified values of constituent elements are provided for information only in Table 2. All values are reported as mass fractions [1].

NOTICE AND WARNINGS TO USERS

Expiration of Certification: This certification is valid for five years from the date of shipment. Should any of the certified values change before the expiration of the certification, purchasers will be notified by NIST. Return of the attached registration card will facilitate notification.

Stability: This material was radiation sterilized at an estimated minimum dose of 25 kGy (2.5 Mrads) for microbiological control. However, its stability has not been rigorously assessed. NIST will monitor this material and will report any substantive changes to the purchaser.

Storage: The material should be kept tightly closed in its original bottle and stored in the dark at a temperature between 10 °C and 30 °C. It should not be exposed to intense sources of radiation. Ideally, the bottle should be kept in a desiccator under the conditions indicated above.

Use: The bottle contents should be thoroughly mixed by rotating and/or rolling the bottle before each use. Allow the contents to settle for one minute prior to opening. A minimum sample of 150 mg of (dry mass - see "Instructions for Drying"), should be used to relate analytical determinations to the certified values in this certificate. Volatile elements (e.g., arsenic, mercury, and selenium) should be determined on samples as received; separate samples from the same bottle should be dried according to these instructions to obtain a correction factor for moisture. This factor is then to be used to correct the analytical results to a dry mass basis.

Dissolution: Digestion procedures should be designed to avoid loss of volatile elements. Digestion of the SRM in nitric and perchloric acids was found to be incomplete with a small residue of siliceous material remaining. This residue must be considered an integral part of the SRM and should be treated with a small amount of hydrofluoric acid to obtain total dissolution.

Coordination of all analytical measurements used in the characterization of this SRM was performed by D.A. Becker of the NIST Analytical Chemistry Division formerly the Inorganic Analytical Research Division.

Statistical analysis of the experimental data was performed by W.F. Guthrie of the NIST Statistical Engineering Division.

The technical and support aspects involved in the certification and issuance of this SRM were coordinated through the Standard Reference Materials Program by R.A. Alvarez and T.E. Gills.

Gaithersburg, MD 20899
November 22, 1995
(Revision of certificate dated 10-19-93)

Thomas E. Gills, Chief
Standard Reference Materials Program

Instructions for Drying: Samples of this SRM must be dried only by one of the following two procedures.

1. Drying in a desiccator at room temperature (approximately 22 °C) for 120 h over fresh anhydrous magnesium perchlorate. The sample depth should not exceed 1 cm.
2. Freeze drying for 24 h at a pressure of 13.3 Pa or lower and a shelf temperature of -5 °C or lower after having frozen the sample (not to exceed 1 cm in depth) at -40 °C or lower for at least 1 h. At the end of the 24 h period, samples are placed immediately in a desiccator with fresh anhydrous magnesium perchlorate. Samples are weighed after allowing a minimum of 4 h to establish temperature equilibrium.

Note: Vacuum drying at room temperature and oven drying at elevated temperatures have resulted in excessive mass losses and therefore are not recommended.

Homogeneity Assessment: Homogeneity was assessed by careful evaluation of the analytical data used for certification. No evidence of chemically or statistically significant inhomogeneity was observed.

Table 1. Certified Mass Fractions (w_B)

| Element | w_B (in %) | | |
|------------------|--------------|---|-------|
| Calcium | 5.05 | ± | 0.09 |
| Nitrogen (Total) | 3.03 | ± | 0.15 |
| Phosphorus | 0.216 | ± | 0.004 |
| Potassium | 2.70 | ± | 0.05 |

| Element | w_B (in mg/kg) | | | Element | w_B (in mg/kg) | | |
|-----------|------------------|---|-------|----------|------------------|---|-------|
| Aluminum | 598 | ± | 12 | Mercury | 0.034 | ± | 0.004 |
| Antimony | 0.063 | ± | 0.006 | Nickel | 1.59 | ± | 0.07 |
| Arsenic | 0.112 | ± | 0.004 | Rubidium | 14.89 | ± | 0.27 |
| Boron | 33.3 | ± | 0.7 | Selenium | 0.054 | ± | 0.003 |
| Cadmium | 1.52 | ± | 0.04 | Sodium | 136 | ± | 4 |
| Chromium | 1.99 | ± | 0.06 | Vanadium | 0.835 | ± | 0.010 |
| Cobalt | 0.57 | ± | 0.02 | Zinc | 30.9 | ± | 0.7 |
| Copper | 4.70 | ± | 0.14 | | | | |
| Iron | 368 | ± | 7 | | | | |
| Manganese | 246 | ± | 8 | | | | |

Certified Values and Uncertainties: The certified values are equally weighted means of results from two or more different analytical methods or the mean of results from a method of known accuracy. In the case of two or more methods, each uncertainty is the sum of a 95 % confidence limit and an allowance for systematic error between the methods used. In the case of a method of known accuracy, each uncertainty is the sum of a 95 % confidence limit and the known systematic error of the method.

Table 2. Noncertified Mass Fractions (w_B)

Elements other than those certified are present in this material. Those that were determined but not certified are provided as additional information on the composition. Although total nitrogen is certified, nitrogen determined by the Kjeldahl procedure is not.

| Element | w_B (in %) |
|----------------------|--------------|
| Hydrogen | 5.2 |
| Magnesium | 1.2 |
| *Nitrogen (Kjeldahl) | 2.92 |
| Sulfur | 0.96 |

| Element | w_B (in mg/kg) | Element | w_B (in mg/kg) |
|------------|------------------|------------|------------------|
| Barium | 63 | Lanthanum | 2.3 |
| Bromine | 1300 | Molybdenum | 0.46 |
| Cerium | 2 | Samarium | 0.19 |
| Cesium | 0.053 | Scandium | 0.1 |
| Chlorine | 6600 | Silver | 0.017 |
| Gadolinium | 0.17 | Strontium | 85 |
| Hafnium | 0.14 | Thorium | 0.12 |
| Iodine | 0.85 | Uranium | 0.035 |

*Method Reference: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 14th Ed., 1984, p.16, Nitrogen (Total) in Fertilizers, Kjeldahl Method (Final Action): Method 2.057, Improved Method for Nitrate Free Samples. Samples were dried as described in procedure 1 under "Instructions for Drying".

Source and Preparation of Material: The plant material for this SRM was collected and prepared under the direction of C.B. Smith, Plant Analysis Laboratory, The Pennsylvania State University, University Park, PA. The tomato leaves were selected from "Count II" tomato plants grown in three lime and fertilizer experiments covering about three acres at the Horticultural Research Farm at Rock Springs, PA. Mature leaves were selected primarily from guard plants which had not received any treatment in order to obtain as uniform material as possible. Twenty four batches of leaves were collected in paper or plastic containers. Since the leaves averaged only about 11 % dry mass, about three tons of leaves had to be collected. Fungicide sprays containing manganese, zinc, and copper were avoided in order to prevent trace element contamination of the leaves.

After each collection, the leaves were transported to the Plant Analysis Laboratory and washed as soon as possible (usually the same day). Most of the soil contamination was removed in a water spray and then the leaves were dipped in a detergent solution, and rinsed in tap water and three successive rinses of distilled water.

The washed leaves were drained and then placed in large pasteboard trays for drying in ovens at 60 °C to 70 °C. Drying had to be done quickly to avoid decomposition. The leaves were then ground to pass a 40-mesh screen in a Wiley Mill. A representative sample was taken from each batch for analysis using an autoanalyzer with manual digestion for nitrogen and an ICP emission spectrometer for twelve other elements. These analyses allowed for a check on each batch before it was mixed with others.

The leaves were placed in six 55-gallon drums with plastic liners for shipment to NIST. Each drum contained an equal portion from each of the 24 batches.

At NIST, the ground leaves were jet milled and air classified to a particle size of approximately 75 μm (200 mesh). After mixing in a large blender, the leaves in bulk were sent to a private company to be irradiated with cobalt-60 radiation to a minimum absorbed dose of 25 kGy for microbiological control then returned to NIST and bottled.

Table 3. Methods and Analysts for Certified Elemental Determinations

| Element | Method Code | Element | Method Code |
|-----------|--------------------------|------------|--------------------------|
| Aluminum | ICP-AES INAA | Mercury | CVAAS RNAA |
| Antimony | INAA RNAA | Nickel | ID-ICPMS RNAA |
| Arsenic | FIA-HAAS RNAA | Nitrogen | KJEL PGAA |
| Boron | ID-ICPMS PGAA | Phosphorus | COLOR ICP-AES |
| Cadmium | ID-ICPMS PGAA RNAA | Potassium | INAA PGAA |
| Calcium | ID-TIMS INAA | Rubidium | ID-TIMS INAA |
| Chromium | INAA RNAA | Selenium | FIA-HAAS INAA RNAA |
| Cobalt | INAA RNAA | Sodium | FAES INAA |
| Copper | ICP-AES RNAA | Vanadium | ID-TIMS INAA |
| Iron | ICP-AES INAA | Zinc | ICP-AES INAA |
| Manganese | LEAFS INAA | | |

Methods:

| | |
|----------|--|
| COLOR | Colorimetry |
| CVAAS | Cold-vapor atomic absorption spectrometry |
| FAES | Flame atomic emission spectrometry |
| FIA-HAAS | Flow injection-hydride generation atomic absorption spectrometry |
| ICP-AES | Inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry |
| ID-ICPMS | Isotope dilution, inductively coupled plasma mass spectrometry |
| ID-TIMS | Isotope dilution, thermal ionization mass spectrometry |
| INAA | Instrumental neutron activation analysis |
| KJEL | Kjeldahl nitrogen determination |
| LEAFS | Laser-excited atomic fluorescence spectrometry |
| PGAA | Prompt gamma activation analysis |
| RNAA | Radiochemical neutron activation analysis |

NIST Analysts

| | |
|----------------|------------------|
| E.S. Beary | K.E. Murphy |
| C.M. Beck II | P.J. Paulsen |
| D.A. Becker | T.A. Rush |
| D.S. Braverman | R. Saraswati |
| M.S. Epstein | J.M. Smeller |
| J.D. Fassett | G.C. Turk |
| K.M. Garrity | T.W. Vetter |
| R.R. Greenberg | R.D. Vocke |
| R.M. Lindstrom | R.L. Watter, Jr. |
| E. Mackey | L.J. Wood |
| J.R. Moody | |

Cooperating Analysts

D.L. Anderson, Center for Food Safety and Applied Nutrition, U.S. FDA, Washington, DC
A.R. Byrne, Jozef Stefan Institute, Ljubljana, Slovenia
J. Kucera, Nuclear Research Institute, Rez, Czech Republic
B. Smodis, Jozef Stefan Institute, Ljubljana, Slovenia

REFERENCE

- [1] Taylor, B.N., Guide for the use of the International System of Units (SI), NIST Special Publication 811, 1995 Ed., (April 1995).