



Laboratório de Química Analítica "Henrique Bergamin Filho"
Centro de Energia Nuclear na Agricultura - USP



Erros sistemáticos no preparo de amostras para determinação de elementos

Francisco José Krug
fjkrug@cena.usp.br

CEN 0260 Métodos Instrumentais de Análise Química

The IRMM – International Measurement Evaluation Programme, IMEP

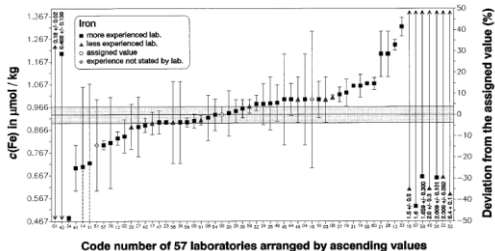
A project of the EC Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM) in cooperation with the National Institute of Standards and Technology NIST (USA) aiming at the improvement of the reliability of chemical measurements under the auspices of IUPAC (the International Union of Pure and Applied Chemistry), EURACHEM (a Focus for Analytical Chemistry in Europe), EUROMET (the Association of European Institutes for Metrology), and CITAC (the Worldwide Cooperation for International Traceability in Analytical Chemistry).

A. Lamberty - L. Van Nevel - P. De Bièvre (IRMM, B-2440 Geel, Belgium)
J. R. Moody
U.S. National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg, MD 20899, USA

2

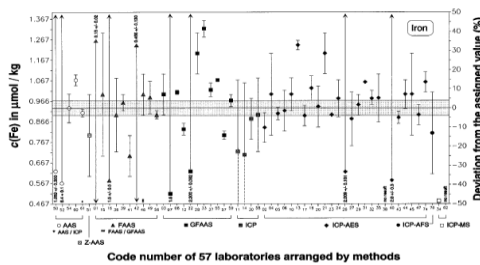
The IRMM – International Measurement Evaluation Programme, IMEP

IMEP-3: International Comparison of Trace Element Measurements in Synthetic and Natural Water



A. Lamberty, L. Van Nevel, J.R. Moody, P. De Bièvre. Accreditation and Quality Assurance, v.1, p.71-82, 1996 3

IMEP-3. Ferro em água natural. Classificação por métodos



A. Lamberty, L. Van Nevel, J.R. Moody, P. De Bièvre. Accreditation and Quality Assurance, v.1, p.71-82, 1996 4



EUROPEAN COMMISSION
DIRECTORATE GENERAL JRC
JOINT RESEARCH CENTRE
IRMM
Institute for Reference Materials and Measurements



IRMM
Isotope Measurements Unit

GER/IM/03/2003
February 2003

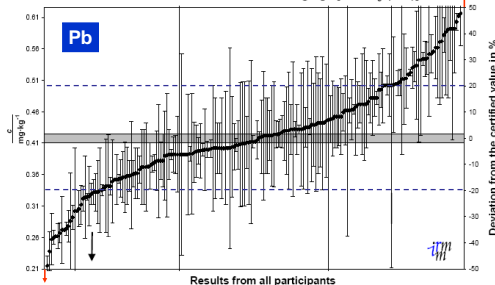
The International Measurement Evaluation Programme

IMEP-19
Trace Elements in Rice
EUR 20551 EN
Report to Participants

267 participantes

IMEP-19: Trace elements in Rice

Certified value : $0.4159 \pm 0.0071 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($tU=k\cdot u_c$ ($k=2$))



10 resultados
abaixo de - 50%

267 participantes

"A confiabilidade de um resultado depende mais de quem o produz do que como é obtido. Não existem maus métodos, mas apenas maus analistas que não atentam para suas próprias limitações"

Sobre a importância do preparo da pessoa mais do que do método e da instrumentação em S. Abbey, Anal. Chem. V.53, n.4, p. 529A, 1981

Extraído de P.E.A. Senise. A química analítica na formação do químico. Química Nova, p.143, 1982.

Fontes de erros

- Amostragem
- Preparo de amostras
- Preparo de reagentes
- Material de referência certificado inapropriado
- Calibração
- Medidas
- Processamento dos dados
- Apresentação dos resultados
- Interpretação dos resultados

8

Principais desafios

- Amostragem
- Preparo de amostras
- Preparo de reagentes
- Material de referência certificado inapropriado
- Calibração
- Medidas
- Processamento dos dados
- Apresentação dos resultados
- Interpretação dos resultados

9

Validação de métodos

A validação de um método estabelece, a partir de estudos sistemáticos em laboratório (s), se um método possui características apropriadas para produzir resultados para a solução do problema analítico.

Adaptado de CITAC / EURACHEM GUIDE, 1998

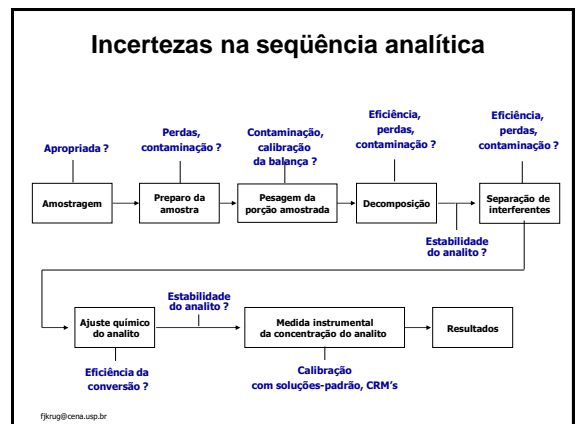
Práticas de Qualidade

Conhecimento das fontes de erro

- Competência técnica

Implementação de mecanismos de prevenção de erros

- Cultura da qualidade



Validação de métodos

- Frascos para armazenar soluções ?
- Salas limpas (classes de limpeza) ?
- Reagentes de alta pureza?

Adaptado de CITAC / EURACHEM GUIDE, p.29, 2002

Incertezas na seqüência analítica

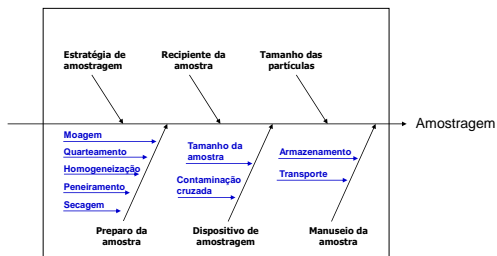
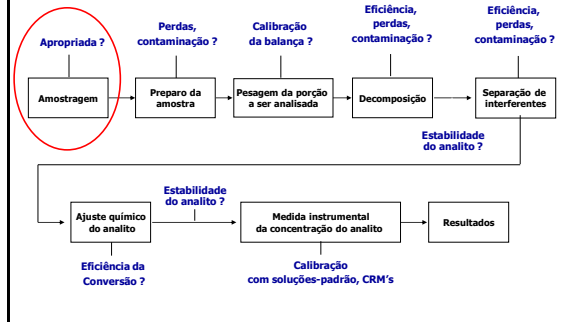


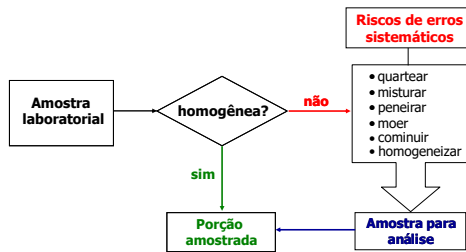
Diagrama "espinha de peixe" mostrando as fontes de incerteza na amostragem (adaptado de Zorzi et al. 2002).

M. H. Ramsey. Sampling the environment: twelve key questions that need answers. Geostandards and Geoanalytical Research, v.28, n.2, p. 251-261, 2004.

Incertezas na seqüência analítica



Porção amostrada



fjru@ccma.usp.br

Exemplo: Homogeneização de amostras biológicas

- Proporciona diminuição de diversidade química/biológica
- ➔ Moagem pode proporcionar contaminações ou perdas de analitos
- Procedimentos dependem da quantidade/tamanho da amostra, parâmetros físico-químicos, dureza, umidade, etc
- Não existem procedimentos-padrão

Ph. Quevauviller, Sci. Total Env., v. 176, p.141, 1995

fjru@ccma.usp.br

18

Composição aproximada de materiais usados em equipamentos de moagem

	ágata %	porcelana %	alumina%	óxido de zircônio %
SiO ₂	99,91	61,0	16,5	0,1
Al ₂ O ₃	0,02	34,0	83,0	
Na ₂ O	0,02			
K ₂ O	0,01	3,0		
Fe ₂ O ₃	0,01			0,03
MnO	0,01			
CaO	0,01			1,5
MgO	0,01			1,5
óxidos		2,0	0,5	ZrO 97,0

B. Markert. Sample preparation (cleaning, drying, homogeneization) for trace element analysis in plant matrices. Sci.Total Env., v.176, p.45-61, 1995

fjkru@cen.usp.br

O branco analítico

(também conhecido como o "calcanhar de Aquiles" da química analítica de traços)

medidas ± incertezas

$$m_{\text{amostra}} \pm s_{\text{am}} \quad m_{\text{branco}} \pm s_{\text{br}}$$

$$\text{resultado} = (m_{\text{am}} - m_{\text{br}}) \pm s_r$$

$$s_r = (s_{\text{am}}^2 + s_{\text{br}}^2)^{1/2}$$

Adaptado de Skip Kingston, 1996

fjkru@cen.usp.br

20

O branco analítico

amostra	$m_{\text{am}} \pm s_{\text{am}}$	55,5 ± 0,3
branco	$m_{\text{br}} \pm s_{\text{br}}$	11,0 ± 5,0
amostra - branco	$m_{\text{am}} - m_{\text{br}} \pm (s_{\text{am}}^2 + s_{\text{br}}^2)^{1/2}$	44,5 ± 5,1

fjkru@cen.usp.br

21

Como controlar o branco analítico?

Evitar contaminação de 3 fontes primárias:

- Laboratório
- Reagentes
- Aparelhos

fjkru@cen.usp.br

22

Principais erros sistemáticos no preparo de amostras

- Contaminação
 - Pelo ar
 - Impurezas em reagentes
 - Materiais
- Perda de elementos
 - Por volatilização
 - Por adsorção
- Decomposição incompleta das amostras

fjkru@cen.usp.br

23

Principais erros sistemáticos no preparo de amostras

- Contaminação
 - Pelo ar
 - Impurezas em reagentes
 - Materiais
- Perda de elementos
 - Por volatilização
 - Por adsorção
- Decomposição incompleta das amostras

fjkru@cen.usp.br

24

Contaminações no laboratório

fjkrug@cena.usp.br

25

Teores de alguns elementos no ambiente de trabalho

	Al	Ca	Fe	K	Pb	Zn
Ar não filtrado ($\mu\text{g g}^{-1}$ pó)	3000	2700	3200	8000	2150	1600
Fumaça de cigarro ($\mu\text{g g}^{-1}$)			7			10
Cosméticos ($\mu\text{g g}^{-1}$)		60000	1100	250		35000
suor ($\mu\text{g ml}^{-1}$)		4-10	1	350	0,1-3	1
Pele ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1-2	250	10	3000		6-20
Cabelo ($\mu\text{g g}^{-1}$)	4-30	3200	5-70	900	3-70	450

fjkrug@cena.usp.br

26

Contaminantes comumente encontrados em alguns cosméticos (adaptado de R. Richter. Clean Chemistry. Techniques for Modern Laboratories. Monroe, Milestone Press, 2003.

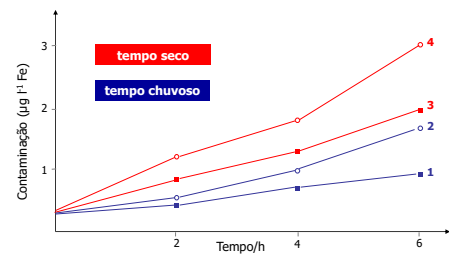
Cosmético Elementos presentes na composição

Baton	Bi, Fe, Mg, Mn, Ti e Zn
Sombra para olhos	Al, Bi, Cr, Fe, Mg, Mn, Si e Ti
Rouge ("Blush")	Ca, Fe, Mg, Si e Ti
Máscara	Al, Cr, Fe, Mg, Na e Ti
Pós faciais	Bi, Ca, Fe, Mg, Si, Ti e Zn
Base	Al, Fe, Mg, Na, Si, Ti e Zn

fjkrug@cena.usp.br

27

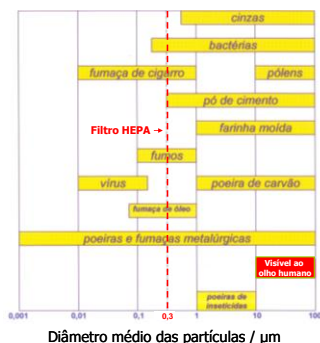
Contaminação de 10 ml HCl (sub-boiling) com ferro pela poeira em laboratório de espectrometria atômica



K. Gretzinger, L. Koltz, P. Tschöpel, G. Töls. Causes and elimination of systematic errors in the determination of iron and cobalt in aqueous solutions in the ng/ml and pg/ml range. Talanta, v.29, p.1011-1018, 1982

28

Contaminantes mais comuns no ar



Adaptado de Murphy, 1976)

T. Murphy, The role of analytical blank in accurate trace analysis, in: P.D. LaFlour (Ed.), National Bureau of Standards Special Publication 422: Accuracy in Trace Analysis: Sampling, Sample Handling, and Analysis, National Bureau of Standards, Gaithersburg, Maryland, 1976, pp. 305-339.

Classes de limpeza

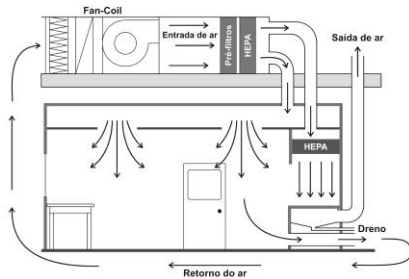
		partículas / m ³	
		≤ 0,5 µm	≤ 5 µm
USFS 209E	ISO 14 644		
	ISO Classe 1	-	-
	ISO Classe 2	4	-
Classe 1	ISO Classe 3	35	-
Classe 10	ISO Classe 4	352	-
Classe 100	ISO Classe 5	3520	29
Classe 1000	ISO Classe 6	35200	293
Classe 10000	ISO Classe 7	352000	2930
Classe 100000	ISO Classe 8	3520000	29300
	ISO Classe 9	35200000	293000

E.S.F. Benett. E o impacto de uma norma ISO na classificação de salas limpas Revista da Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação, 6(1998)20-23.

Reprodução autorizada

fjkrug@cena.usp.br

Corte esquemático de sala limpa
(adaptado de Tölg e Tschöpel, 1994)



G. Tölg, P. Tschöpel, Systematic errors in trace analysis. In: Z.B. Alfassi. Determination of trace elements. Weinheim, VCH, p.2-37, 1994.

Concentração de alguns elementos no ar de laboratórios
($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

	Fe	Cu	Pb	Cd
Laboratório comum	0,2	0,02	0,4	0,002
Sala branca	0,001	0,002	0,0002	n.d.
Capela de fluxo laminar	0,0009	0,007	0,0003	0,0002

Maienthal, E.J., In J.K. Taylor ed. National Bureau of Standards. Technical Note 545, p.53-54, 1970

fkrug@cena.usp.br

32

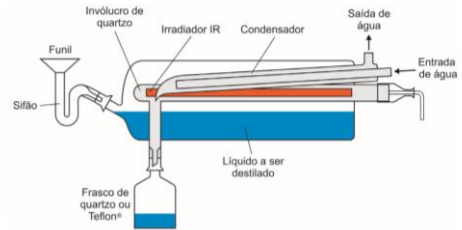
Principais erros sistemáticos no preparo de amostras

- **Contaminação**
 - Pelo ar
 - Impurezas em reagentes
 - Materiais
- **Perda de elementos**
 - Por volatilização
 - Por adsorção
- **Decomposição incompleta das amostras**

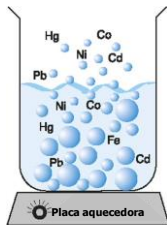
fkrug@cena.usp.br

33

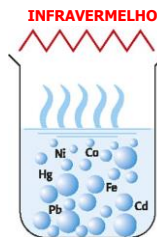
Purificação de água ou ácidos por destilação abaixo do ponto de ebulição (figura adaptada de Kuehner et al., 1972)



E.C. Kuehner, R. Alvarez, P.J. Paulsen, T.J. Murphy, Production and analysis of special high-purity acids purified by subboiling distillation, Anal. Chem. 44 (1972) 2050-2056.



EBULIÇÃO



SUBEBULIÇÃO

Ilustração: cortesia Milestone

Destilador "sub-boiling" (Kuehner)



36

Impurezas residuais em diferentes ácidos. (Tschöpel et alii, 1980)

	µg L ⁻¹			
	Cd	Fe	Pb	Zn
HCl 10 mol l ⁻¹ "subboiling"	0,01	0,6	0,05	0,2
HCl 10 mol l ⁻¹ Suprapur®	0,03	11	0,13	0,3
HCl 12 mol l ⁻¹ p.a.	0,1	100	0,5	8,0
HNO ₃ 15 mol l ⁻¹ "subboiling"	0,001	0,2	<0,002	0,04
HNO ₃ 15 mol l ⁻¹ Suprapur®	0,06	14	0,7	5,0
HNO ₃ 15 mol l ⁻¹ p.a.	0,1	25	0,5	3,0

fjknug@cena.usp.br

37

DuoPUR Acid Purification System (Cortesia Milestone)



150 ml HNO₃ h⁻¹ a 300 W

40 ml H₂SO₄ h⁻¹ a 1000 W



38

DuoPUR Acid Purification System (HNO₃)

Comparison of trace metal contamination in select high-purity nitric acids. Concentration is shown in pg/g.

	DuoPUR Double distilled	Fisher Optima™	Baker Ultrex®
Ti	5.5 ± 1.1	<20	<100
V	0.8 ± 0.4	< 1	< 20
Cr	3.1 ± 0.7	<10	< 50
Mn	1.4 ± 0.4	< 1	< 20
Co	0.5 ± 0.3	< 1	< 20
Ni	8.1 ± 3.0	<10	<100
Cu	10 ± 2.5	< 2	< 50
Zn	12 ± 3.2	< 2	<100

R. Richter. Clean Chemistry. Techniques for Modern laboratories. Monroe, Milestone Press, 2003.

39

Principais erros sistemáticos no preparo de amostras

- Contaminação
 - Pelo ar
 - Impurezas em reagentes
 - Materiais
- Perda de elementos
 - Por volatilização
 - Por adsorção
- Decomposição incompleta das amostras

fjknug@cena.usp.br

40

Impurezas em diferentes materiais (ng/g). Adaptado de Tolg e Tschöpel, Anal. Sci. 3(1987) 199-208.

Elemento	Carbono Vítreo	PTFE Teflon	Quartzo Heralux	Quartzo Suprasil	Vidro Borosilicato
B	100	-	100	10	principal
Na	350	25000	1000	10	principal
Mg	100	-	100	100	6x10 ⁵
Al	6000	-	30000	100	principal
Si	85000	-	principal	principal	principal
K	80000	-	800-3000	100	10 ⁶
Ti	12000	-	800	100	3000
Cr	80	30	5	3	3000
Mn	100	-	10	10	6000
Fe	2000	10	800	200	2x10 ⁵

41

Impurezas em diferentes materiais (ng/g). Adaptado de Tolg e Tschöpel, Anal. Sci. 3(1987) 199-208.

Elemento	Carbono Vítreo	PTFE Teflon	Quartzo Heralux	Quartzo Suprasil	Vidro Borosilicato
Co	2	2	1	1	100
Ni	500	-	-	-	2000
Cu	200	20	70	10	1000
Zn	300	10	50	100	3000
As	50	-	80	0,1	500-22000
Cd	10	-	10	-	1000
Sb	10	0,4	2	1	8000
Hg	1	10	1	1	-

fjknug@cena.usp.br

Contaminantes presentes em alguns polímeros (Moody e Lindstron, 1977). Valores em $\mu\text{g g}^{-1}$

Elemento	LDPE	HDPE	PP	PFA	FEP	PTFE
Al	0,5	30	55		0,2	0,23
Ca		800				
K	> 5	> 0,6			90	
Na	1,3	15	4,8	0,1	0,4	0,16
Sb	0,005	0,2	0,6			
Ti		5	60			
Mn		0,01	0,02	0,02	0,06	
Zn		520				

HDPE: polimerização catalizada por Al, Ti, Zr, V e Cr

PP: polimerização catalizada por Al e Ti

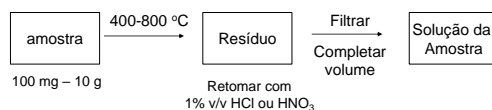
Principais erros sistemáticos no preparo de amostras

- Contaminação
 - Pelo ar
 - Impurezas em reagentes
 - Materiais
- Perda de elementos
 - Por volatilização
 - Por adsorção
- Decomposição incompleta das amostras

Perdas de elementos por volatilização

Forma	Elementos
Elementar	As, Te, Sb, Se, Sn, Cd, Pb, Ti, Zn, Hg, S, P, Br, I
Óxidos	As, S, Se, Te, Re, Ru, Os, Cd, Hg, Zn
Fluoretos	B, Si, Ge, Sn, P, As, Sb, Bi, S, Se, Ti, Zr, Hf, V, Nb, Ta, Mo, W, Re, Ru, Os, Ir, Hg
Cloretos	Al, Ga, In, Ti, Ge, Sn, P, As, Sb, Bi, S, Se, Te, Ti, Zr, Hf, Ce, V, Nb, Ta, Mo, W, Mn, Fe, Ru, Os, Au, Zn, Cd, Pb, Hg
Hidretos	Si, Ge, Sn, Pb, P, As, Sb, Bi, S, Se, Te

Decomposição por via seca em muflas



Perdas por volatilização em muflas

Elemento	Matriz	Temperatura (°C)	Tempo (h)	% perdas
Ag	figado de animal	450	?	<5
	rim de animal	450	?	<20
Al	figado de animal	450	?	16
	rim de animal	450	?	12
As	sangue de boi (seco)	850	16	35
	sangue de boi (seco)	550	16	29
	sangue de boi (seco)	450	16	28
Ba	rim de animal	450	?	4
Ca	tecido nervoso humano	420	16	<1
	tecido nervoso humano	600	16	<1
	tecido nervoso humano	710	16	<1

Elemento	Matriz	Temperatura (°C)	Tempo (h)	% perdas
Cd	figado de animal	450	?	<0,7
	figado de rato	600	16	1,6
	figado de rato	500	16	2
	rim de rato	500	16	4,4
Co	molusco	450	?	26
	molusco	800	?	22
Cr	açúcar refinado	450	?	0
	açúcar demerara	450	?	13
	açúcar não refinado	450	?	47
	melaço	450	?	52
	açúcar refinado	450	?	63
	açúcar demerara	450	?	62



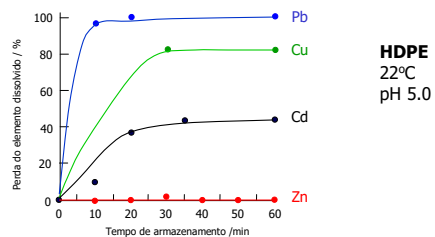
Principais erros sistemáticos no preparo de amostras

- Contaminação
 - Pelo ar
 - Impurezas em reagentes
 - Materiais
- Perda de elementos
 - Por volatilização
 - Por adsorção
- Decomposição incompleta das amostras

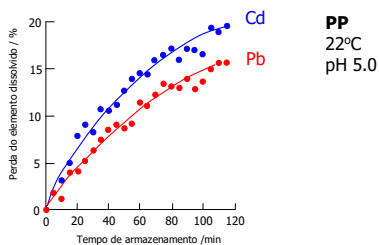
fjkrug@cema.usp.br

49

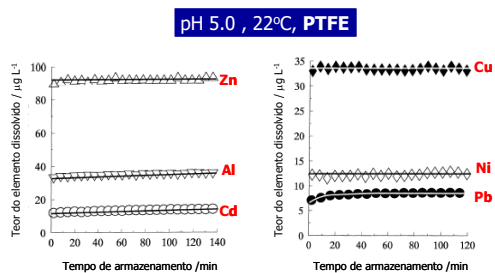
Amina L.R. Sekaly, C.L. Chakrabarti, M.H. Back, D.C. Grégoire, Julia Y. Lu, W.H. Schroeder. *Stability of dissolved metals in environmental aqueous samples*: Rideau River surface water, rain and snow. *Analytica Chimica Acta* 402 223–231, 1999.



Amina L.R. Sekaly, C.L. Chakrabarti, M.H. Back, D.C. Grégoire, Julia Y. Lu, W.H. Schroeder. *Stability of dissolved metals in environmental aqueous samples*: Rideau River surface water, rain and snow. *Analytica Chimica Acta* 402 223–231, 1999.



Amina L.R. Sekaly, C.L. Chakrabarti, M.H. Back, D.C. Grégoire, Julia Y. Lu, W.H. Schroeder. *Stability of dissolved metals in environmental aqueous samples*: Rideau River surface water, rain and snow. *Analytica Chimica Acta* 402 223–231, 1999.



Descontaminação

Aparelho para limpeza e descontaminação de frascos com vapor ácido

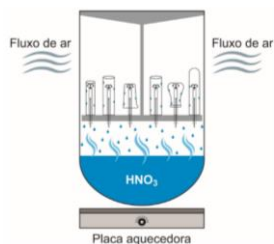
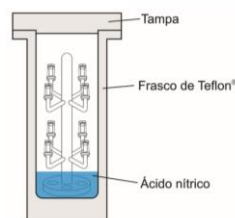


Figura reproduzida com permissão da Milestone Srl

TraceCLEAN Acid Reflux Cleaning System (cortesia Milestone)



Descontaminação de copos de amostradores com vapor ácido em frasco fechado assistida por radiação micro-ondas (Barnes et al, 1998).



R.M. Barnes, S.P. Quinaia, J.A. Nóbrega, T. Blanco. A fast microwave-assisted, acid-vapor, steam cleaning procedure for autosampler cups. Spectrochim. Acta part B, v.53, p.769-771, 1998

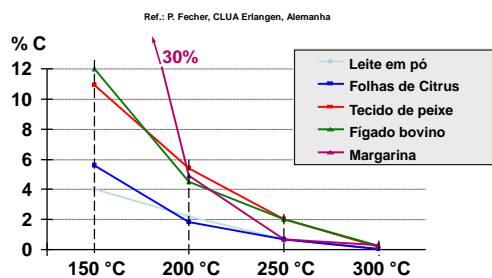
Principais erros sistemáticos no preparo de amostras

- Contaminação
 - Pelo ar
 - Impurezas em reagentes
 - Materiais
- Perda de elementos
 - Por volatilização
 - Por adsorção
- Decomposição incompleta das amostras

fkrug@cena.usp.br

57

Eficiência de decomposição em frasco fechado com HNO₃ (65% v/v)



Interferências isobáricas em ICP-MS

Massa	Íon fundo	Analito (% abundância)
24	¹² C ¹² C ⁺	²⁴ Mg (78,6)
26	¹² C ¹⁴ N ⁺	²⁶ Mg (11,3)
28	¹⁴ N ¹⁴ N ⁺	²⁸ Si (92,2)
48	¹² C ³⁶ Ar ⁺	⁴⁸ Ca (0,18)
		⁴⁸ Ti (73,5)
52	¹² C ⁴⁰ Ar ⁺	⁵² Cr (83,8)
53	¹³ C ⁴⁰ Ar ⁺	⁵³ Cr (9,6)

fkrug@cena.usp.br

59

Um exemplo de como o conhecimento das fontes de erros pode nos ajudar

Ensaio de Proficiência em Produtos
Sujeitos ao Regime de Vigilância Sanitária
(EP/INCQS)

Ensaio de Proficiência para Determinação de
Elemento Inorgânico em Alimentos

Rodada EP ING 01/11

1ª Rodada: Ferro em farinha de trigo

ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO



Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS
Avenida Brasil, 4365 - Manginhos
Rio de Janeiro - RJ - Brasil - Cx. Postal 926 - CEP: 21040-900

COMISSÃO ORGANIZADORA DA RODADA

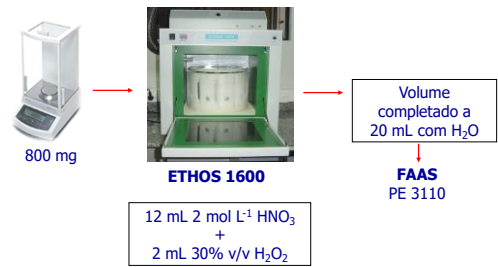
COMISSÃO DO PROGRAMA DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA

Arni Wanderley da Nóbrega - Coordenador Geral
Marcus Henrique Campino de la Cruz - Coordenador Técnico
Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso - Coordenadora da Qualidade

Método: FAAS (ar-C₂H₂) após decomposição
assistida por radiação micro-ondas

- Exigência: Determinação por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)
- Preparo da amostra: livre escolha

Preparo das amostras para
determinação de ferro por FAAS



fjferug@cena.usp.br

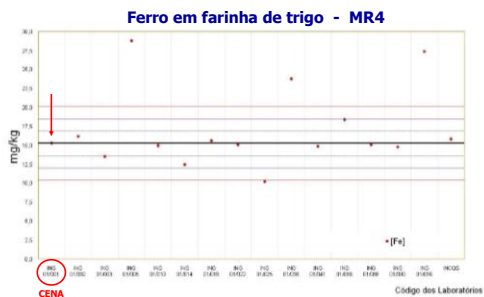
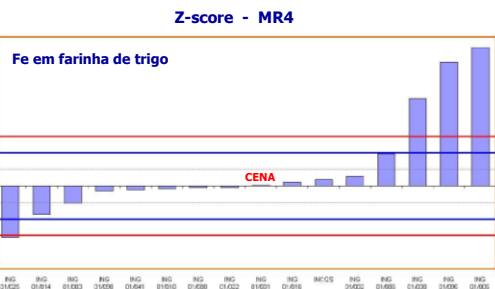


Figura 2. Gráfico de dispersão dos resultados dos laboratórios participantes para o Lote MR4



Recomendações para escolha de métodos de decomposição por via úmida:

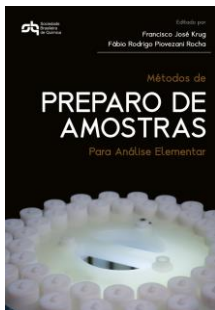
- i. Uso de pequenas quantidades de reagentes de alta pureza
- ii. Frascos de reação com pequena área superficial com relação ao tamanho da amostra
- iii. Uso de materiais inertes
- iv. Sistemas fechados são preferíveis
- v. Material orgânico deve ser decomposto totalmente (**discutível**)

fkrug@cema.usp.br

Digestão em sistemas fechados

- 😊 Menor contaminação pelo ar
- 😊 Não há perdas de elementos por volatilização
- 😊 Menor volume de ácidos de alta pureza
- 😊 Menores brancos (melhores limites de detecção)
- 😊 Menor tempo de preparo de amostras
- 😊 Menores teores de carbono residual
- 😊 Redução dos custos da análise

fkrug@cema.usp.br



Referência:

D. Santos Junior, J.A. Nóbrega, G.G.A. Carvalho, F. J. Krug, Erros Sistemáticos no Preparo de Amostras. In: F.J. Krug, F.R.P. Rocha (Eds.), Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar. São Paulo: EditSBQ, 2016, p. 55-102.