

OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE EXTRAÇÃO DE FÓSFORO EM SEDIMENTOS POR MEIO DE BLOCO DIGESTOR

Juci A. S. Silva¹, Doriedson d. S. Júnior¹, Elisangela C. Santos¹

¹Instituto federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas – Grupo de Investigação e Aplicações em Química (GIAQ), Rod. Eng. Joaquim Gonçalves - Dom Constantino, Penedo - AL, - jass17@aluno.ifal.edu.br.

Palavras-Chave: Otimização, quimiometria, fósforo total.

Introdução

A otimização de uma metodologia ou processo tem como finalidade promover a melhora no desempenho de um sistema de modo a obter dele o máximo benefício possível (ARAÚJO, 1996 apud NOVAES, et al. 2017). Em um método analítico, diversos fatores (variáveis), podem influenciar na proporção da resposta e na qualidade do sistema estudado. Dessa forma, quando métodos analíticos são desenvolvidos, também é necessária uma otimização destes por meio da análise de variáveis e seus respectivos níveis (BEZERRA, et al., 2008).

O termo "otimização" vem sendo utilizado para designar uma série de experimentos que visam calcular as condições de realização de um método que, quando aplicadas, produzem a melhor resposta possível, garantindo assim, as melhores qualidades analíticas e também maior sensibilidade (NOVAES, et al. 2017).

Tradicionalmente os processos de otimização tendem a realizar o monitoramento de um fator por vez sobre uma determinada resposta experimental. Entretanto têm-se aumentado a utilização de ferramentas quimiométricas para o processo de otimização de metodologias analíticas, pois além de reduzir a quantidade de reagentes gasto, também reduz a quantidade de experimentos e, conseqüentemente, a de tempo gasto (BROWN, et al., 2009).

Dentre as diversas técnicas de otimização multivariadas, a metodologia de superfícies de resposta (MSR) vem sendo amplamente aplicada devido a sua alta eficiência, capacidade de exploração dos sistemas estudados e poder de modelagem. Sendo uma combinação de técnicas de planejamento de experimentos, métodos de otimização e análise de regressão. Baseando-se em dados experimentais, obtidos por meio de uma determinada matriz experimental, visando descrever o comportamento desses dados e também de fazer previsões estatisticamente válidas. Sendo utilizada para quantificar e interpretar as relações entre as respostas obtidas e os efeitos dos fatores (HANRAHAN, et al., 2006 apud NOVAES, 2017).

Nos últimos anos, é possível observar o aumento significativo nos estudos relacionados a importância dos sedimentos para avaliar o meio aquático. Sendo considerados ambientes de interações entre espécies, tanto com a biota residente quanto com a coluna d'água (SARAIVA, et al., 2009). Os sedimentos desempenham também um papel ativo nos ciclos biogeoquímicos de nutrientes e elementos traços, incluindo a retenção, remobilização, absorção e oxidação da matéria orgânica (BERDEL, 2008).

Entre os diversos problemas ambientais decorrentes da poluição hídrica, a eutrofização destaca-se por ocasionar alterações significativas, como perda da biodiversidade, redução da qualidade da água, mudanças na composição das espécies e até mesmo a redução do nível de oxigênio, levando à morte de peixes. Sendo o fósforo uma das principais causas desse problema e diversos estudos têm se concentrado no seu papel no crescimento de algas e no equilíbrio de ecossistemas aquáticos (FILHO et al., 2012 apud SILVA, 2021).

Com base em resultados obtidos através de pesquisa anterior, constatou-se que, entre as metodologias de extração por meio de centrifugação, ultrassom e extração em bloco digestor, a última apresentou uma melhor resposta quando comparada as outras metodologias avaliadas.

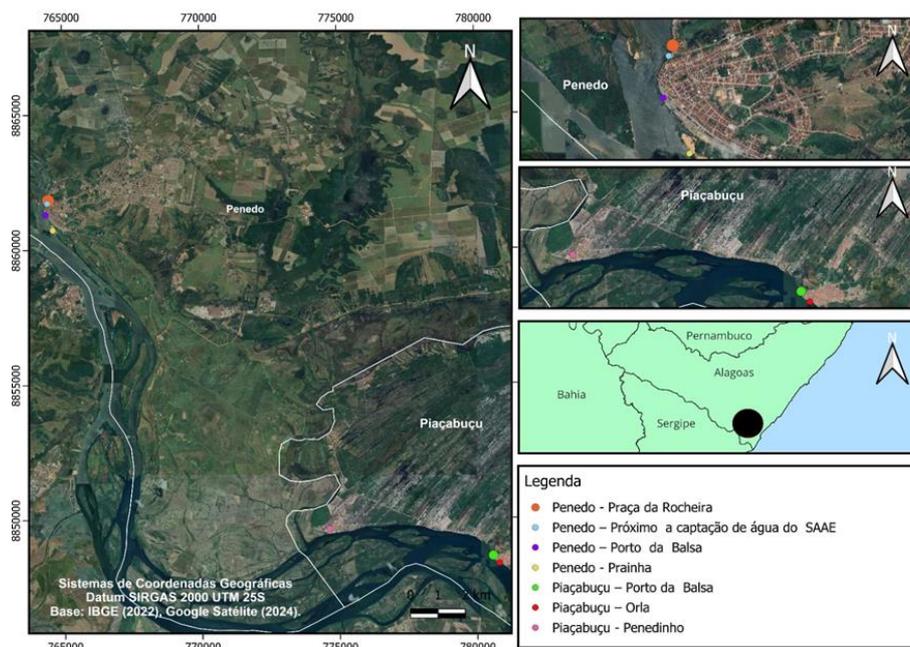
O presente trabalho tem como objetivo otimizar a metodologia de extração de fósforo em sedimentos por meio do uso do bloco digestor e aplica-la na avaliação de amostras de sedimentos superficiais coletados no rio São Francisco entre as cidades de Penedo-AL-Piaçabuçu-AL.

Material e Métodos

As amostras foram coletadas em sete estações do baixo curso do rio São Francisco: Piaçabuçu – Porto da Balsa (-10.405641, -36.437322), Piaçabuçu – Orla (-10.408093, -36.435231), Piaçabuçu – Penedinho (-10.398556, -36.491694), Penedo – Próximo ao SAAE (-10.288171, -36.585649), Penedo – Praça da Rocheira (-10.287222, -36.585278), Penedo – Porto da Balsa (-10.292056, -36.586139), Penedo – Prainha (-10.297194, -36.583750), a Figura 1 retrata graficamente os pontos de coleta no trecho estudado.

As amostras foram coletadas em sacos plásticos (0-20cm), em seguida foram colocadas na estufa a temperatura de 50°C durante o período de 3h a fim de realizar a secagem dos sedimentos.

Figura 1: Pontos de coleta



Fonte: Autores (2024).

Seleção das variáveis relevantes para a extração de fósforo

Experimentos preliminares foram realizados para avaliar os fatores relevantes na extração de fósforo dos sedimentos coletados utilizando a extração por bloco digestor a fim de delimitar a região experimental para a investigação através da metodologia de superfície de resposta. Foi investigada a relação amostra solvente na extração desse analito, considerando as proporções 0,1:10 e 0,4:10 (m:v), isto é, 0,1g, 0,4g de amostra foram submetidos à extração em volume fixo de 10 mL de solução extratora para cada amostra durante 60 minutos a 100° C.

Também foi avaliada a influência do tempo e a temperatura de extração do analito de interesse nas temperaturas de 25°C, 62°C e 100°C em que 0,4g de amostra foram submetidos a extração em volume fixo de 10mL das soluções de HCl PA, HNO₃ PA e Melich 1 em tempo variando de 30, 45 e 60 minutos de extração, após esse processo todas as amostras foram analisadas para determinar o teor de fósforo total. Também foi feito a análise univariada da

concentração da solução de Melich 1 nas concentrações de 0,15 HCl+0,0375 H₂SO₄ mol.L⁻¹, 0,2 HCl+ H₂SO₄ mol.L⁻¹, 0,25 HCl+0,0625 H₂SO₄ mol.L⁻¹, 0,3 HCl+0,0750 H₂SO₄ mol.L⁻¹, 0,35 HCl+0,0875 H₂SO₄ mol.L⁻¹ e 0,4 HCl+0,1 H₂SO₄ mol.L⁻¹, já que essa solução foi a que, nos testes preliminares, apresentou um melhor resultado.

Do planejamento experimental

O processo de extração de fósforo foi submetido a um planejamento experimental, no intuito de otimizá-lo e foi feito tendo como base a metodologia de planejamento do composto central em que foram avaliados três fatores, sendo eles tempo (em min), temperatura (em °C) e concentração (em mol.L⁻¹) com dois níveis cada e cinco repetições do ponto central. O *software* utilizado para gerar a matriz experimental e também no tratamento dos dados obtidos foi o R Studio versão 4.4.0 a escolha se deu por se tratar de um *software* livre. A Figura 2 traz o planejamento fatorial gerado.

Figura 2 – Planejamento fatorial.

```
> add.center(plan, 5)
  Tempo Temperatura Concentração
1      0           0             0
2      0           0             0
3     -1           1            -1
4      1           -1            1
5     -1           1             1
6      1           -1            -1
7      0           0             0
8     -1           -1            -1
9     -1           -1             1
10     1            1            -1
11     1            1             1
12     0            0             0
13     0            0             0
class=design, type= full factorial.center
```

Fonte: Os autores (2024).

As condições adotadas para as variáveis inicialmente fora as apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Variáveis e níveis utilizados na otimização

Variável	Inferior (-)	Ponto central	Superior (+)
Tempo (em minutos)	30	45	60
Temperatura (em °C)	25	62	100
Concentração (em mol.L ⁻¹)	0,1	0,55	1

Fonte: Os autores.

Foram realizados 13 ensaios, com cinco pontos centrais seguindo o planejamento do composto central. Aproximadamente 0,4g de amostra de sedimentos, adicionou-se 10mL de solução extratora em concentrações variadas de acordo com o planejamento experimental. As amostras foram levadas ao bloco digestor a temperaturas e por tempos estabelecidos no planejamento experimental. Após o término das extrações, as amostras foram identificadas de acordo com as condições as quais foram submetidas e preparadas para análise do fósforo total. A determinação das condições otimizadas para as variáveis foi realizada com o auxílio do *software* estatístico R.

Soluções extratoras

Com os dados provenientes da pesquisa bibliográfica realizada nos meses iniciais, e também em trabalho anterior, percebeu-se grande incidência de 3 soluções nos trabalhos vistos, sendo elas as soluções de HCl, HNO₃ e a solução de Melich que se trata de uma solução duplo ácida composta por HCl e H₂SO₄. Com isso realizou-se 3 extrações, cada uma com uma determinada solução, onde todas as amostras foram submetidas as mesmas condições, seguindo o descrito na metodologia padrão a fim de padronizar as demais variáveis de modo que a variação de resposta obtida pudesse ser atribuída unicamente como consequência da solução extratora. A concentração das soluções utilizadas foi de PA para as soluções de HCl e HNO₃ e de 0,1 mol.L⁻¹ de HCl e de 0,0250 mol.L⁻¹ H₂SO₄ para a solução duplo ácida de Melich.

Determinação da concentração de fósforo total

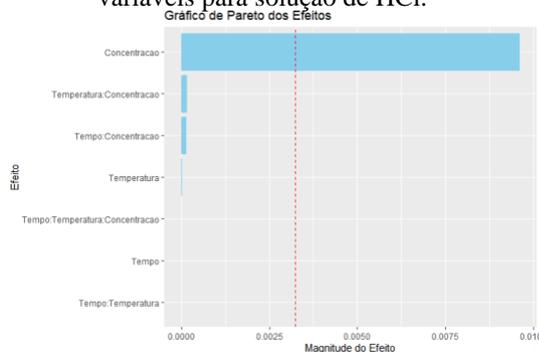
Com 0,5mL da solução proveniente da metodologia de extração, adicionou-se 0,8mL de solução ácida de molibdato e tartarato, 10 mL de água ultrapura, 0,2mL de ácido ascórbico (500ppm). Em seguida prosseguiu-se com a agitação em centrífuga por 30 minutos a 1000rpm, aguardou-se mais 30 minutos para a formação do complexo azul. Para a determinação da concentração do fósforo total utilizou-se um espectrofotômetro UV-Vis (KASUAKI Digital IL-593-S) a 740nm. A determinação do comprimento de onda ideal para realizar as análises foi feita seguindo a metodologia descrita por Teixeira et al (2017), sendo empregado um espectrofotômetro UV-Vis (KASUAKI) na faixa de 500nm a 900nm verificando-se a variação da absorvância a cada 20nm.

Resultados e Discussão

Após a avaliação da relação amostra solvente notou-se que a relação 0,1:10 (m:v) só apresentava variação na resposta analítica desejada, a absorvância, na terceira casa decimal, por esse motivo utilizou-se a relação amostra solvente de 0,4:10 (m:v) conforme a metodologia utilizada por Teixeira et al (2017) e testada e validada por Junior & Reis (2022).

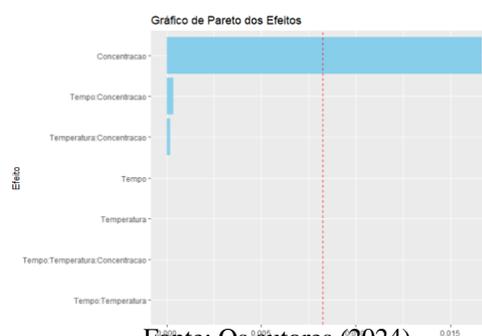
As Figuras 3 e 4 retratam o resultado obtido para o gráfico de interações feito para verificar quais variáveis do processo de extração apresentavam resultado significativo.

Figura 3 - Gráfico de interações entre as variáveis para solução de HCl.



Fonte: Os autores (2024).

Figura 4 - Gráfico de interações entre as variáveis para solução de HNO₃.



Fonte: Os autores (2024).

E também foi feito o estudo das interações para a solução extratora de Melich-1 com o mesmo tempo e temperatura, mas variando a concentração molar em decorrência da proporção

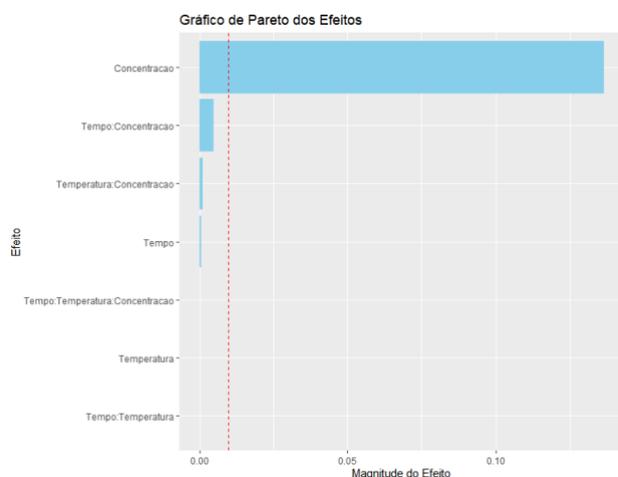
original da solução. As condições adotadas estão presentes na Tabela 2 e o resultado proveniente da aplicação do planejamento experimental pode ser observado nas Figuras 5 e 6.

Tabela 2 - Variáveis adotadas para a solução extratora de Melich-1.

Variável	Inferior (-)	Ponto central	Superior (+)
Tempo (em minutos)	30	45	60
Temperatura (em °C)	25	62	100
Concentração (em mol.L ⁻¹)	0,1 HCl+0,0250 H ₂ SO ₄	0,15 HCl+0,0375 H ₂ SO ₄	0,2 HCl+0,0500 H ₂ SO ₄

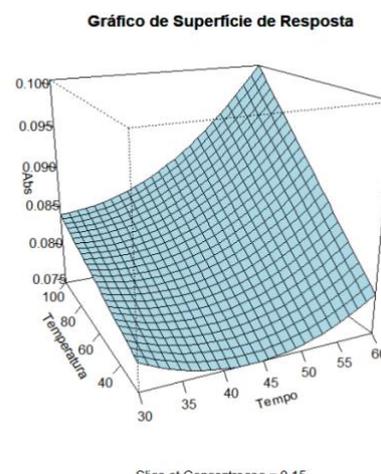
Fonte: Os autores (2024).

Figura 5 - Gráfico de interações entre as variáveis para solução de Melich-1.



Fonte: Os autores (2024).

Figura 6 - Superfície de resposta para solução de Melich-1.



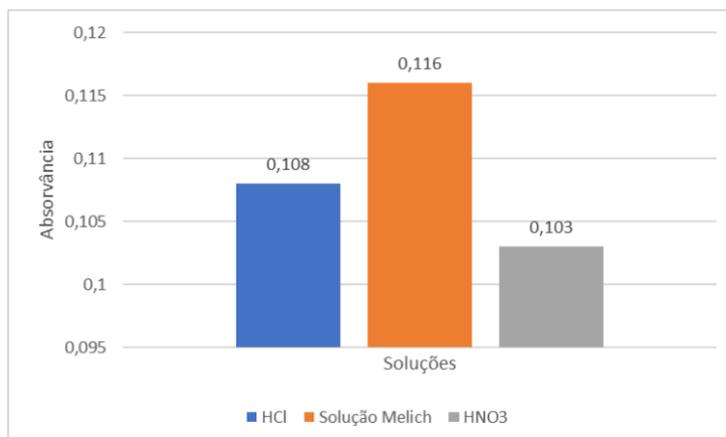
Slice at Concentração = 0,15

Fonte: Os autores (2024).

Dentre os fatores concentração, tempo e temperatura, apenas a concentração da solução apresentou significância no intervalo de 95% de confiança, desse modo o planejamento inicial de fazer uma análise multivariada teve que sofrer alteração, pois apenas um fator apresentou resultado significativo, desse modo, adotou-se como padrão o tempo e a temperatura do ponto máximo e fez-se necessário regredir da análise multivariada para uma análise uni variada, uma vez que apenas a concentração da solução extratora foi significativa de fato.

Entretanto, antes de prosseguir com a análise uni variada da concentração, foi realizado um teste comparativo para determinar qual das soluções extratoras apresentaria uma melhor resposta. Já com as novas condições a fim de determinar quais das soluções extratoras produziriam um melhor resultado, a solução HCl P.A, adaptada da metodologia de Chaves (2018), com a solução de HNO₃ também P.A, presente na metodologia original de Chaves (2018) ou a solução de Melich 1 comumente utilizada para esse tipo de extração. O resultado proveniente das extrações pode ser observado na Figura 7.

Figura 7 - Comparativo entre as soluções extratoras.



Fonte: Os autores (2024).

Observando a Figura 7 apresentada acima é possível perceber que, entre as soluções extratoras testadas, a solução duplo-ácida de Melich-1 foi a que gerou uma melhor resposta analítica (absorvância). Por esse motivo a solução foi utilizada nas demais extrações. E foi a solução extratora utilizada para a análise uni variada.

Após a determinação da melhor solução extratora, testou-se também diferentes concentrações a fim de verificar qual delas produziria um melhor sinal analítico. A Tabela 3 retrata quais as concentrações utilizadas e a resposta obtida para cada concentração.

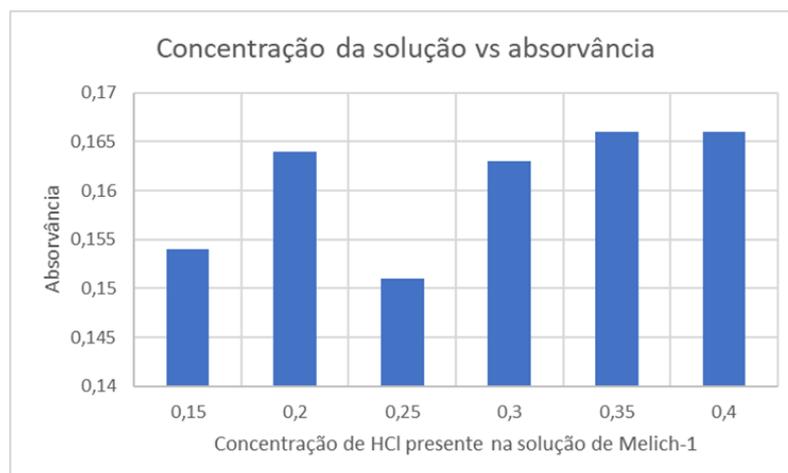
Tabela 3 - Concentração da solução extratora e absorvância.

Solução extratora	Concentração de HCl e H ₂ SO ₄ em mol.L ⁻¹	Absorvância
Melich-1	0,15 HCl+0,0375 H ₂ SO ₄	0,154
Melich-1	0,2 HCl+0,0500 H ₂ SO ₄	0,164
Melich-1	0,25 HCl+0,0625 H ₂ SO ₄	0,151
Melich-1	0,3 HCl+0,0750 H ₂ SO ₄	0,163
Melich-1	0,35 HCl+0,0875 H ₂ SO ₄	0,166
Melich-1	0,4 HCl+0,1 H ₂ SO ₄	0,166

Fonte: Autores (2024).

Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 8 abaixo.

Figura 8 - Concentração da solução vs absorvância.



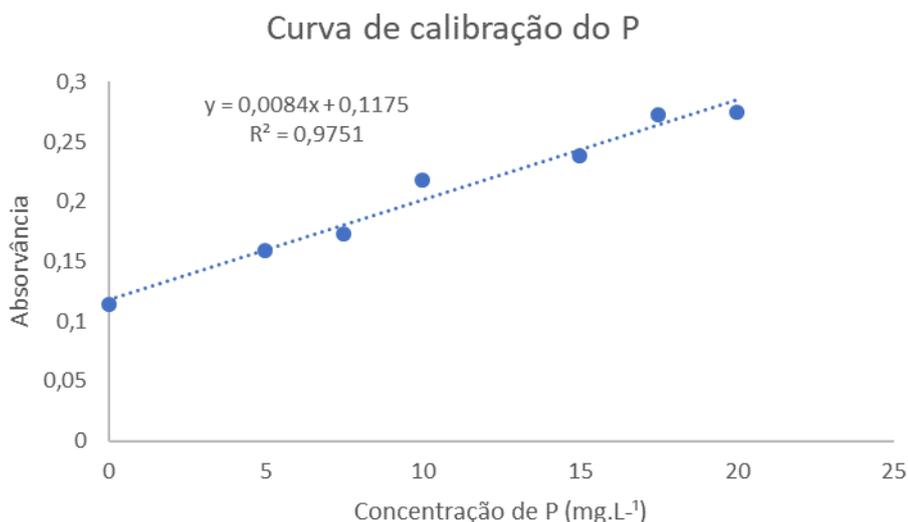
Fonte: Autores (2024).

Com base no resultado apresentado acima, pode-se notar que a otimização ocorreu na concentração de 0,35 mol.L⁻¹ de HCl e de 0,0875 mol.L⁻¹ de H₂SO₄, concentração adotada para as demais análises.

Os parâmetros foram fixados em: uso da solução extratora de Melich 1 com concentração adaptada de 0,35 HCl+0,0875 H₂SO₄ mol.L⁻¹, temperatura de 100°C e tempo de 60 minutos.

Foi construída uma curva analítica de calibração que relaciona a concentração de fósforo com o valor da absorvância utilizando-se o comprimento de onda de 740nm. A curva obtida pode ser observada na Figura 9.

Figura 9- Curva de calibração.



Fonte: Próprios autores (2024).

A linearidade da curva (R) estabelece a correlação da reta, sendo a linearidade igual a 1 uma correlação perfeita. Na curva obtida a linearidade foi de 0,9875, indicando, assim, uma correlação forte.

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram determinados a partir de dez soluções do branco analítico. Os valores de LOD e LOQ foram calculados aplicando-se a Equação 1 e 2:

$$\text{LOD} = 3.s/a \quad (\text{Equação 1})$$

$$LOQ = 10 \cdot s/a \quad (\text{Equação 2})$$

onde, s é o desvio padrão da medida dos brancos e a é o coeficiente angular da curva de calibração.

A curva apresentada possibilitou calcular os valores de LOD e LOQ, sendo $18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ e $61 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectivamente.

Aplicou-se a metodologia com as condições ótimas para a extração de fósforo nos sedimentos coletados, os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Concentração de fósforo e desvio padrão.

Ponto de coleta das amostras	Concentração média ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) \pm	Desvio padrão
	Desvio padrão	relativo (n=3)
P1: Piaçabuçu – Porto da Balsa	138,151 \pm 18,554	13,43%
P2: Piaçabuçu – Orla	459,592 \pm 6,192	1,35%
P3: Piaçabuçu – Penedinho	111,496 \pm 5,946	5,33%
P4: Penedo – Próximo ao SAAE	86,159 \pm 2,101	2,44%
P5: Penedo – Praça da Rocheira	69,888 \pm 8,585	12,28%
P6: Penedo – Porto da Balsa	69,836 \pm 6,863	9,83%
P7: Penedo – Prainha	32,705 \pm 2,102	6,43%

Fonte: Próprios autores (2024).

Através da comparação da média das concentrações obtidas por meio da análise das amostras é possível notar que o P2, amostra coletada na Orla de Piaçabuçu, foi o que apresentou uma maior concentração de fósforo, sendo está de $459,592 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Entretanto, de acordo com a legislação CONAMA 454/2012 o valor de alerta para a concentração de fósforo em sedimentos é de $2000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Desse modo, nenhum dos pontos analisados estão acima desse valor de alerta estando, assim, em conformidade com a legislação vigente.

Conclusões

Diante do exposto, pode-se concluir que foi possível otimizar a metodologia de extração de fósforo por bloco digestor através da análise do gráfico de interações, aplicando a metodologia de superfície de resposta e da análise uni variada da concentração, único fator com impacto significativo para otimização da metodologia estudada. A metodologia otimizada foi aplicada para realizar a extração do fósforo presente em sedimentos coletados no trecho estudado e, embora a concentração de fósforo para o ponto de coleta 2 tenha apresentado um valor bem mais elevado quando comparado aos demais pontos, todos os valores encontram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente.

Agradecimentos

Queremos agradecer ao CNPq pelo financiamento do projeto na modalidade PIBIC intitulado otimização da metodologia de extração de fósforo em sedimentos superficiais do rio São Francisco no trecho Penedo-Piaçabuçu meio de bloco digestor, à nossa orientadora Elisangela Costa Santos por nos orientar durante as atividades do projeto e empenho em nos ajudar durante nossas pesquisas e testes em bancada. E agradecer a professor Márcio Silva pelas orientações fornecidas em relação ao *software* R.

Referências

- Assis, D. M. S.; Lima, A. B.; Silva, E. R. M.; Silva, A. S. Barbosa, I. C.C. Avaliação dos Parâmetros Físico-Químicos da Água de abastecimento em diferentes bairros do município de Salvaterra (Arquipélago do Marajó, PA). **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 5, p. 1825-1839, 2017. ISSN 1984-6835.
- Berdel, G. B. B. Estudo do fósforo sedimentar e de suas especiações químicas em dois sistemas costeiros e Plataforma Continental Sudeste (Brasil) e Baía do Almirantado (região antártica) considerando suas relações biogeoquímicas. Trabalho de conclusão de curso (Doutor em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- Bezerra, Marcos Almeida et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965-977, 2008.
- Brown, S. D.; Tauler, R.; Walczak, B.; *Comprehensive Chemometrics: Chemical and Biochemical Data Analysis*, vol. 1, 1st ed., **Elsevier**: Amsterdam, 2009.
- Chaves, L. S.; Mattos, B. B.; Balieiro, F. C.; Pereira, C. S. S.; Campos, D. V. B. Determinação de fósforo em frações granulométricas em Planossolo Háplico. In: XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Química (COBEQ), São Paulo-SP, 23 de set. 2018. **Anais**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2018.
- CONAMA. Resolução CONAMA nº 454. 2012. Disponível em: www.imcbio.gov.br. Acesso em: 31 Jul. 2024.
- Junior, D. S. S.; Reis, M. V. S. Fósforo em sedimentos superficiais do Rio Piauí-AL. Trabalho de Conclusão de Curso (Técnico em Meio Ambiente) - Instituto Federal de Alagoas, Penedo, AL, 2022.
- Novaes, C. G. et al. Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies De Resposta - Parte I: Variáveis de Processo. **Rev. Virtual Química Nova**, v. 40, p. 1184-1215, 2017.
- Teixeira, P. C.; Donagemma, G. K.; Fontana, A.; Teixeira, W. G. Fósforo disponível. In: **Manual de Métodos de Análise de Solo**. Brasília: EMBRAPA, 2017, cap. 2.
- Saraiva, V. K. et al. Avaliação da qualidade de sedimentos - estudo de caso: sub-bacia do Ribeirão Espírito Santo, afluyente do Rio São Francisco. **Rev. Virtual Química Nova**, v. 32, 2009.
- Silva, J. A. S.; Reis, M. V. S. Determinação de fósforo disponível em sedimentos superficiais do rio São Francisco nas localidades de Penedo-Piaçabuçu por espectrofotometria UV-Vis. **Educt**, v. 10, 2021.