UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

DIEGO PEREIRA LEITE

**Estudo de métodos para a determinação de
As, Cd, Pb, Cr e Se em fertilizantes base
orgânica por AAS e ICP OES**

Versão corrigida da dissertação conforme resolução CoGPr 5890

O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

15/07/2015

DIEGO PEREIRA LEITE

**Estudo de métodos para a determinação de
As, Cd, Pb, Cr e Se em fertilizantes base
orgânica por AAS e ICP OES**

*Dissertação apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do Título de
Mestre em Ciências (Química)*

Orientador: Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira

São Paulo

2015

Nome: Leite, Diego Pereira

Título: Estudo de métodos para a determinação de As, Cd, Pb, Cr e Se em fertilizantes base orgânica por AAS e ICP OES

*Dissertação apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do Título de
Mestre em Ciências (Química)*

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ **Instituição:** _____

Julgamento: _____ **Assinatura:** _____

Prof. Dr. _____ **Instituição:** _____

Julgamento: _____ **Assinatura:** _____

Prof. Dr. _____ **Instituição:** _____

Julgamento: _____ **Assinatura:** _____

*À Jaqueline e Márcia, por me ensinarem que
o amor de uma família não está atrelado aos
laços sanguíneos.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Pedro Vitoriano de Oliveira pela orientação desse trabalho e por toda a paciência. Fico feliz de ter tido a oportunidade de ter sido orientado por uma pessoa cuja bagagem científica irá me inspirar ao longo da minha carreira.

À Professora Cassiana Seimi Nomura pelos ensinamentos compartilhados e pelas boas conversas.

À minha querida amiga e colega de trabalho Vivian, pelo apoio incondicional, incentivos, conselhos e boas risadas, sem os quais teria sido mais difícil fazer esse trabalho.

Aos meus queridos amigos e colegas de trabalho Alexandre, Gislayne e Luiza pela amizade e pela ajuda na realização nesse trabalho.

À Professora Denise Freitas Siqueira Petri por me disponibilizar o seu laboratório para realização dos experimentos com a sonda ultrassônica que foram de grande importância para esse trabalho.

À Professora Juliana Naozuka e ao Professor Angerson Nogueira do Nascimento (UNIFESP) pelas conversas e amizade.

Aos amigos do Grupo de Análises e Pesquisas em Espectrometria (GAPE): Aline, Alexandrina, Bruno, Daniel, Flávio, Leandro, Lelaine, Pedro, Rogério, Sandra e Vinícius pelo companheirismo e amizade.

Às técnicas do laboratório Aline, Luciana e Priscila pela amizade e pelos auxílios no dia-a-dia do laboratório.

Aos Professores Ranato Sanches Freire e Jorge César Masini, pelas contribuições dadas ao compor a banca de qualificação desse trabalho.

À Jaqueline e Márcia por todo o amor, apoio, amizade e por estarem na minha vida como uma verdadeira família.

À minha mãe Edileuza e ao meu pai de criação Toshio por toda educação, amor e apoio.

À minha amada irmã Aline por todo o amor, apoio incondicional e por estar presente mesmo em tempos difíceis.

À minha querida amiga Télia pelos dez anos de amizade, companheirismo, risadas e carinho.

Às minhas queridas amigas Débora, Mariana, e Vanessa e ao meu amigo Vinícius pela amizade, apoio, risadas e pelo colar nas horas que precisei de um amigo.

Ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo por toda a infraestrutura e apoio aos estudos na Graduação em Química Ambiental e no Mestrado.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

À CAPES e à FAPESP pelo apoio financeiro.

Obrigado.

“O homem é do tamanho do seu sonho”

Fernando Pessoa

RESUMO

Leite, D.P. **Estudo de métodos para a determinação de As, Cd, Pb, Cr e Se em fertilizantes base orgânica por AAS e ICP OES.** 2015. 107 pg. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O objetivo desse trabalho foi o desenvolvimento de métodos analíticos com extração assistida por ultrassom para a determinação de As, Cd, Cr, Pb e Se em fertilizantes base orgânica por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Para o desenvolvimento de métodos onde se utiliza a extração assistida por ultrassom, além da escolha do dispositivo ultrassônico a ser utilizado, são necessárias as otimizações de parâmetros como concentração de ácido na solução extratora, tempo de extração e massa de amostra, de modo a se obter a máxima eficiência de extração. Foram utilizados dois dispositivos: o banho ultrassônico, equipamento largamente difundido em laboratórios de química e uma adaptação da sonda ultrassônica em banho, na ausência e na presença de borbulhamento com ar atmosférico para agitação da solução. Tendo sido definidos os dispositivos a serem utilizados, desenvolveu-se o primeiro método, onde foram empregados ácidos diluídos nas soluções extradoras (HNO_3 e HCl). Após a otimizações dos parâmetros de concentração, tempo e massa, percebeu-se que As, Cd e Pb tiveram recuperações próximas a 100% em CRM de lodo de esgoto, o que não ocorreu para Cr e Se. As condições otimizadas para ambos os ácidos ficaram em 2% (v v^{-1}) de ácido, com tempo de extração de 10 minutos e massa de amostra de 60 mg, sendo que os dispositivos ultrassônicos que obtiveram melhor eficiência foram o banho ultrassônico e a sonda (extração indireta) com borbulhamento de ar atmosférico. De modo a se obterem extrações quantitativas de Cr e Se, foi desenvolvido um segundo método, onde adicionava-se ácido concentrado diretamente na amostra. Foram feitas diluições da solução extratora antes e depois da extração, para se verificar a eficiência de extração em pequenos volumes de solução extratora. Nesse método, foram otimizados o volume de ácido concentrado adicionado, tempo de extração e massa de amostra. Houve a impossibilidade de borbulhamento devido ao pequeno volume de amostra, foram utilizados os dispositivos de banho ultrassônico e sonda (extração indireta). Foram observadas boas recuperações (entre 80% e 100%) para todos elementos com ambos os ácidos, com exceção do Se quando se adiciona HCl diretamente na amostra. As condições otimizadas foram de adição de 1000 μL de HNO_3 , com tempo de extração de vinte minutos e massa de amostra de 30 mg e de 200 μL de HCl , com tempo de extração de dez minutos e massa de amostra de 60 mg. Após o desenvolvimento dos métodos com CRM, foram determinadas as figuras de mérito para cada analito, onde os limites de quantificação de todos os elementos ficaram abaixo do exigido pela normativa brasileira. Os métodos foram aplicados em amostras de condicionadores de solo, substrato e fertilizante, utilizando-se a digestão assistida por micro-ondas para comparação de resultados. Não foram encontrados teores quantificáveis de As, Cd e Se, enquanto o Pb foi quantificável apenas nas amostras digeridas por micro-ondas e o Cr pelos dois métodos. No entanto, para Cr, os resultados não foram concordantes, sendo que foi encontrado um maior teor desse elemento na digestão assistida por micro-ondas.

Palavras-chave: extração, ultrassom, fertilizantes orgânicos, GF AAS, ICP OES.

ABSTRACT

Leite, D.P. **Study of Methods for determination of As, Cd, Pb, Cr and Se in organic fertilizers by AAS and ICP OES.** 2015. 107 pg. Master Thesis–Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The aim of this work was the development of analytical methods by assisted ultrasound extraction for the determination of As, Cd, Cr, Pb e Se in organic fertilizers by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GF AAS) and Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). For methods' development, which are employed the assisted ultrasound extraction, beyond the choice of the ultrasonic device that will be used, optimizations' parameter like concentration of acid, time of extraction and sample mass are needed, in order to obtain maximum efficiency of extraction. Two devices were used in this work: the ultrasonic bath, that is widespread in chemical labs and a probe, wherein was made an indirect extraction in the presence and absence of atmospheric air bubbling. With the definition of the devices that will be used, the first method was developed, which were employed diluted acids as extractors (HNO_3 e HCl). After the optimization of acid concentration, time of extraction and sample mass, the method was applied for the determination of As, Cd and Pb with recoveries near to 100% in sewage sludge CRM, but did not present good results for Cr and Se. The optimized conditions for both acids were 2% (v v^{-1}) of concentration, 10 minutes of ultrasonication and 60 mg of sample mass. The better extraction efficiency was observed for ultrasonic bath and probe (indirect extraction) with atmospheric air bubbling. In order to obtain quantitative extractions of Cr and Se, a second method was developed, based on direct addition of concentrated acid on the sample and ultrasonication. The dilution of the extractor solution was made before and after the extraction, in order to verify the efficiency of the extraction. In this method, the volume of acid, time of extraction and sample mass were also optimized. Due to the small volumes it was not possible of bubbling air during the extraction using ultrasonic bath and probe (indirect extraction). Good recoveries were obtained for all analytes with both acids, excepting the recovery of Se with directly addition of HCl . The optimized conditions for extraction with HNO_3 were 1000 μL , 20 minutes and 30 mg of sample mass. For the extraction with HCl , the parameters optimized were 200 μL , 10 minutes and 60 mg of sample mass. After the development of both methods with CRM, the figures of merit for each analyte were determined and the methods were applied in soil conditioners, substrate and organic fertilizer samples. The results were compared with the microwave assisted digestion of the samples. There were not found quantifiable levels of As, Cd and Se, while Pb was founded only in the samples prepared with microwave assisted digestion and Cr was determined in both methods. However, the results for Cr were not concordant, wherein was found a higher level in the microwave assisted digested samples.

Key-words: extraction, ultrasound, organic fertilizers, GF AAS, ICP OES

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BEC - Concentração Equivalente à Radiação de Fundo (do inglês: *Background Equivalent Concentration*)

CCD - Dispositivo de Carga Acoplada (do inglês: *Charge Coupled Device*)

CID – Dispositivo de Carga Injetada (do inglês: *Charge Injection Device*)

CV AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (do inglês: *Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry*)

CRM - Material de Referência Certificado (do inglês: *Certified Reference Material*)

DAE - Diluição Anterior à Extração

DPE - Diluição Posterior à Extração

FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (do inglês: *Food and Agriculture Organization*)

F AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do inglês: *Flame Atomic Absorption Spectrometry*)

GF AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (do inglês: *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)

HG AAS - Espectrômetria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (do inglês: *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*)

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Performance (do inglês: *High Performance Liquid Chromatography*)

ICP-MS - Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês: *Inductively Coupled Plasm Mass Spectrometry*)

ICP OES - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês: *Inductively Coupled Plasm Optical Emission Spectrometry*)

LOD - Limites de Detecção (do inglês: *Limit of Detection*)

LOQ - Limites de Quantificação (do inglês: *Limit of Quantification*)

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MIP OES - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (do inglês: *Microwave Induced Plasm Optical Emission Spectrometry*)

RSD - Desvio Padrão Relativo (do inglês: *Relative Standard Deviations*)

SD - Desvio Padrão (do inglês: *Standard Deaviation*)

TXRF - Espectrometria de Reflexão Total de Fluorescência de Raios-X (do inglês: *Total Reflection X-ray Fluorescence*)

US - Ultrassom

WHO - *World Health Organization*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação dos ciclos de expansão e compressão de microbolhas com a passagem da onda acústica	31
Figura 2. Diminuição do tamanho do tamanho de partícula de um sólido.....	32
Figura 3. Visão externa do dispositivo utilizado para as extrações indiretas por sonda com e sem borbulhamento	44
Figura 4. Dispositivo utilizado para as extrações indiretas por sonda com e sem borbulhamento	45
Figura 5. Perfil do material sólido nas extrações por ultrassom.....	46
Figura 6. Preparo de amostras para extrações assistidas por ultrassom com adição direta de ácido.....	50
Figura 7. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se no CRM de lodo de esgoto, em função da concentração da solução extratora de HNO_3 ou HCl para extração assistida por ultrassom.....	64
Figura 8. Isotermas de adsorção de Cd em dois tipos de solo	67
Figura 9. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se no CRM em função do tempo de sonicação	70
Figura 10. Recuperações de As, Cd e Pb em função da massa de amostra	74
Figura 11. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se no CRM em diferentes misturas de ácidos.....	76

Figura 12. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se de acordo com o volume de ácido para extração assistida por ultrassom com ácido adicionado diretamente na amostra	79
Figura 13. Distribuição das espécies de Cr (III) em função do pH.....	81
Figura 14. Diagrama de pE e pH para as espécies de Se	82
Figura 15. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se de acordo com o tempo de extração para extração assistida por ultrassom com ácido adicionado diretamente na amostra	84
Figura 16. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se de acordo com a massa de amostra	86
Figura 17. Amostras antes da secagem e moagem	92
Figura 18. Amostras após a secagem em liofilizador seguida de moagem em moinho almofariz e pisitilo	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Limites máximos de contaminantes admitidos em fertilizantes orgânicos (MAPA, 2006).....	21
Tabela 2. Parâmetros instrumentais utilizados na análise por ICP OES.....	42
Tabela 3. Soluções utilizadas no estudo de soluções extratoras compostas por misturas ácidas	49
Tabela 4. Programa de aquecimento para digestão das amostras em micro-ondas.....	55
Tabela 5. Temperaturas de Pirólise e Atomização para As, Cd, Cr, Pb e Se em soluções analíticas de referência e extrato da amostra.....	59
Tabela 6. Programas de aquecimento em GF AAS para os elementos As, Cd, Cr, Pb e Se, visando as determinações nas amostras de interesse.....	61
Tabela 7. Melhores condições utilizadas da extração assistida por ultrassom com soluções de ácidos diluídos.....	75
Tabela 8. Parâmetros otimizados da extração assistida por ultrassom com adição direta de ácidos	88
Tabela 9. Valores de LOD e LOQ para As, Cd, Cr, Pb (ICP OES) e Se (GF AAS).....	88
Tabela 10. Determinação de As, Cd, Cr, Pb (ICP OES) e Se (GF AAS) para cada método de extração assistida por ultrassom desenvolvido.....	90
Tabela 11. Determinação de As, Cd, Cr, Pb (ICP OES) e Se (GF AAS) em digestão assistida por micro-ondas e extração assistida por ultrassom.....	94

SUMÁRIO

1. Introdução	17
1.1. Contaminantes orgânicos e inorgânicos em fertilizantes.....	19
1.2 Elementos de interesse da pesquisa.....	20
1.3 Métodos de determinação elementar em fertilizantes	25
1.4. Ultrassonicação no preparo de amostras	30
2. Objetivo	36
3. Materiais e Métodos	37
3.1 Instrumentação.....	37
3.2 Reagentes e soluções.....	39
3.3 Amostras	39
3.4 Procedimentos Experimentais.....	40
3.4.1. <i>Otimização dos programas de aquecimento por GF AAS</i>	40
3.4.2. <i>Condições de operação do ICP OES</i>	42
3.4.3. <i>Condições das extrações assistidas por ultrassom</i>	43
3.4.4. <i>Otimização dos parâmetros das extrações assistidas por ultrassom com soluções de ácidos diluídos</i>	46
3.4.4.1. <i>Otimização das concentrações dos ácidos diluídos</i>	47
3.4.4.2. <i>Otimização do tempo de extração com ácidos diluídos</i>	47
3.4.4.3. <i>Otimização da massa de amostra nas extrações com ácidos diluídos</i> 48	
3.4.4.4. <i>Avaliação de soluções extratoras compostas por misturas dos ácidos diluídos</i> 48	
3.4.5. <i>Otimização dos parâmetros das extrações assistidas por ultrassom com ácidos concentrados</i>	49
3.4.5.1. <i>Otimização do volume de ácidos concentrados adicionados diretamente na amostra</i>	49
3.4.5.2. <i>Otimização do tempo nas extrações com ácidos concentrados</i>	51
3.4.5.3. <i>Otimização da massa de amostra nas extrações assistidas por ultrassom com ácidos concentrados</i>	51
3.4.6. <i>Estimativa das figuras de mérito dos métodos propostos com extrações assistidas por ultrassom</i>	52
3.4.7. <i>Determinações de As, Cd, Cr, Pb e Se em amostras de fertilizantes orgânicos, substratos de solo e condicionadores</i>	54
3.4.7.1. <i>Tratamentos preliminares das amostras</i>	54

3.4.7.2. Digestão das amostras em micro-ondas	55
3.4.7.3. Extração das amostras assistida por ultrassom	56
4. Resultados e discussão	58
4.1 Programas de aquecimento para as determinações de As, Cd, Cr, Pb e Se por GF AAS	58
4.2 Extrações assistidas por ultrassom com soluções de ácidos diluídos	61
4.2.1 Escolha do tipo e concentração de ácidos na solução extratora	62
4.2.3 Otimização do tempo de extração	69
4.2.4 Escolha da massa de amostra	73
Os parâmetros otimizados da extração assistida por ultrassom com soluções de ácidos diluídos estão reunidos na Tabela 7	75
4.2.5 Avaliação de soluções extratoras compostas por misturas ácidas	75
4.3. Extrações assistidas por ultrassom com adição direta de ácidos concentrados na amostra	77
4.3.1. Estudo do volume de ácidos concentrados adicionados diretamente sobre a amostra	77
4.3.2. Estudo do tempo na extração com ácidos adicionados diretamente sobre a amostra	83
4.3.3. Estudo da massa de amostra na condição de extração com ácidos concentrados	85
4.4. Parâmetros analíticos para as determinações de As, Cd, Cr, Pb e Se por ICP OES e GF AAS com extração ultrassônica	88
4.5. Determinação de As, Cd, Cr, Pb e Se nas amostras de fertilizantes orgânicos, substratos de solo e condicionadores	91
5. Conclusão	97
6. Referências Bibliográficas	99

1. Introdução

A demanda para a produção de alimentos vem crescendo, nos últimos anos, na proporção do intenso crescimento da população mundial. É esperado também que a renda da população mundial cresça, fazendo com que os hábitos alimentares mudem em favor de um maior consumo de alimentos nos próximos anos (LOPEZ & GUILHERME, 2007). Para suprir essa futura demanda por alimentos será necessário elevar a produtividade, melhorando a tecnologia associada ao cultivo das plantações, uma vez que, dificilmente haverá um enorme aumento das áreas agricultáveis (ALEXANDRATOS & BRUINSMA, 2012)

O Brasil ocupa uma posição de grande importância na agricultura mundial, com destaque para produção de grãos. Devido à extensão de terras férteis é um dos países com maior potencial de crescimento das atividades agropecuárias, seja pelo aumento de produtividade ou pelo aumento da área plantada (LAPIDO-LOREIRO, *et al.*, 2008). De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a produção de grãos aumentou 33% entre 2006 e 2011. Também, de acordo com o MAPA, é esperado que até a safra do período 2022/2023, o aumento da produção de grãos seja de, aproximadamente, 20% sobre a safra de 2013/2014, enquanto a área plantada deverá ter aumento de apenas 8,2%. Esses resultados só puderam ou poderão ser alcançados graças ao crescimento da produtividade média, que se deve ao uso de novas tecnologias de cultivo e, principalmente, ao aumento da aplicação de fertilizantes nas áreas agrícolas (MAPA, 2012; MAPA 2013).

Fertilizantes, comumente chamados de adubos, são produtos que fornecem os nutrientes essenciais às plantas, possibilitando o seu desenvolvimento. Sob o ponto de vista químico, os fertilizantes podem ser classificados como minerais ou

orgânicos. Os fertilizantes minerais têm composição prioritariamente inorgânica, sendo extraídos de jazidas minerais e processados em indústrias químicas. Para atender a quantidade de micronutrientes necessária, alguns resíduos de indústrias também podem ser incorporados e, dependendo da origem, acaba por adicionar também elementos potencialmente tóxicos na composição final dos fertilizantes (LAPIDO-LOUREIRO, *et al.*, 2008).

Os fertilizantes orgânicos podem ser definidos como materiais que vão dar suporte e melhorar as condições do solo para absorção de nutrientes pelas plantas. São compostos de materiais geralmente insolúveis em água, que possuem baixa concentração de nutrientes. Os fertilizantes orgânicos são provenientes de resíduos de animais e plantas ou de origens mistas, como o lodo de esgoto. Cada fonte é avaliada de acordo com a quantidade e com a disponibilidade de nutrientes que possui, principalmente em relação a nitrogênio, fósforo e potássio. Dependendo da abundância e da deficiência de um dado micro ou macronutriente, os fertilizantes podem ser combinados para se adequarem às necessidades de nutrientes do solo e da plantação. Em geral, os principais nutrientes que um fertilizante orgânico deve fornecer são N, P, K, Ca, Mg e S (RECHIGL & MACKINNON, 1997).

Para fabricação da maioria dos fertilizantes orgânicos, os resíduos são submetidos a um processo denominado compostagem. Este é um processo microbiológico que reduz os resíduos orgânicos em matéria húmica, convertendo materiais inaptos à aplicação agrícola em materiais de aplicações seguras. Os principais benefícios desse processo estão relacionados à redução do volume do material e da concentração de carbono, eliminação de organismos patógenos e de substâncias orgânicas potencialmente tóxicas ao ambiente e aumento da

concentração de nutrientes disponíveis para as plantas. Os principais resíduos orgânicos que passam por esse processo de compostagem são os de animais, das fábricas de madeira, biossólidos, industriais e de tratamento de esgoto (RECHCIGL & MACKINNON, 1997).

O uso de fertilizantes orgânicos melhora as propriedades químicas e físicas do solo, além de ser um método relativamente barato, o que impacta na redução dos custos de plantio (ANTUNES, *et al.*, 2008).

Além disso, quando devidamente tratados, esses resíduos possuem elevados teores de carbono orgânico e de nutrientes, o que confere ao solo melhorias que resultam em um incremento de produtividade e na qualidade de produtos agrícolas (ABREU JUNIOR, *et al.*, 2005).

1.1. Contaminantes orgânicos e inorgânicos em fertilizantes

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, milhares de pessoas adoecem ou morrem devido à ingestão de alimentos contaminados (OMS, 2002). Geralmente, a alta concentração de elementos potencialmente tóxicos em alimentos deve-se pela aplicação, no solo, de defensivos agrícolas e fertilizantes contaminados. Além disso, o acúmulo de elementos nas plantas também se deve a fatores como clima, solo, genótipo da planta, manejo agrícola e da mobilidade do elemento. Apesar dos benefícios, as sucessivas aplicações de fertilizantes provenientes de resíduos de esgoto e lixo urbano podem apresentar potencial de contaminação do solo, como a introdução de patógenos, substâncias orgânicas tóxicas e acúmulo de elementos potencialmente tóxicos no solo e na plantação (PIRES & MATIAZZO, 2007). Os elementos potencialmente tóxicos podem ser

incorporados aos fertilizantes quando a matéria-prima de origem é indevidamente coletada e separada (ABREU JUNIOR, *et al.*, 2005). A contaminação do solo por esses elementos afeta o crescimento das plantas e altera os processos bioquímicos do solo, tendo como consequência a mineralização do nitrogênio e a nitrificação (TSUTIYA, 1999).

Os principais contaminantes dos solos são os elementos potencialmente tóxicos, que são espécies inorgânicas que podem ser de origem natural ou antropogênica. A toxicidade desses elementos é alta mesmo em concentrações em níveis de traços, podendo acumular-se no ambiente, potencializando os respectivos efeitos tóxicos. O principal meio de interação entre os contaminantes e os componentes do solo se dá através da adsorção, sendo que as interfaces com o solo se estabelecem por meio de coloides orgânicos e inorgânicos, além de espécies inorgânicas como óxidos, carbonatos, fosfatos e hidróxidos (BRADL, 2004).

1.2 Elementos de interesse da pesquisa

Devido à preocupação com a contaminação por fertilizantes em geral, surgiu em 1998 a primeira lei americana, aprovada no estado de Washington, que mostrava limites para os elementos As, Cd, Co, Hg, Mo, Ni, Pb, Se e Zn em fertilizantes (RODELLA, 2005). No Brasil, os limites máximos para qualquer tipo de fertilizante estão descritos na Instrução Normativa SDA nº 27, 05 de junho de 2006 (Tabela 1). Para fertilizantes orgânicos, essa normativa prescreve limites máximos, em mg/kg, para As, Cd, Pb, Cr, Hg, Ni e Se (MAPA, 2006).

Tabela 1. Limites máximos de contaminantes admitidos em fertilizantes orgânicos (MAPA, 2006).

Contaminante	Valor Máximo Admitido (mg/kg)
Arsênio	20,00
Cádmio	3,00
Chumbo	150,00
Cromo	200,00
Mercúrio	2,00
Níquel	70,00
Selênio	80,00

O As é encontrado naturalmente em rochas sedimentares e em algumas áreas geotermicamente ativas, além de estar presente naturalmente como elemento traço em solos, águas e em materiais particulados presentes na atmosfera (MCLAUGHLIN, *et al.*, 1999; COSTA, *et al.*, 2015). No ambiente, o As pode ser encontrado em formas inorgânicas, principalmente nos estados de oxidação (III) e (V), além das formas orgânicas, que são produtos de metabolismo de animais e plantas, como o monometilarsênio, dimetilarsênio, arsenobetaina e arsenoaçúcares. As formas inorgânicas de As são mais tóxicas do que as orgânicas (LEEMAKERS, *et al.*, 2006). A ingestão aguda pode causar vômitos, diarreias e dores abdominais (HUGHES, *et al.*, 2011), enquanto a de longo prazo está relacionada com as formações de lesões na pele, ao desenvolvimento de câncer de pele, bexiga e pulmão, modificações no metabolismo da glicose e doenças cardiovasculares (CUBADDA, *et al.*, 2010). Nos dias atuais, a exposição de As se dá principalmente devido à contaminação por fontes antropogênicas, como pesticidas, herbicidas, aplicação de fertilizantes fosfatados, aplicações industriais e mineração (HUGHES, *et al.*, 2011; SINGH, *et al.*, 2015). A exposição de As causa impacto ambiental principalmente em solos e em corpos d'água e pode levar à consequente

contaminação de alimentos (COSTA, *et al.*, 2015). Em fertilizantes orgânicos, a contaminação de As pode ocorrer através de materiais derivados principalmente de aves de granja, pois para esse tipo de criação é administrado um fármaco denominado Roxarsona, usado como suplemento alimentar, que contém compostos de arsênio em sua composição (SINGH, *et al.*, 2015). Caso esse tipo de matéria prima seja utilizada na produção ou diretamente como fertilizantes orgânicos pode provocar contaminação do solo e dos alimentos que forem produzidos.

O Se, assim como o As, é um metaloide presente na crosta terrestre cujas recentes exposições estão relacionadas às emissões antropogênicas, que no caso desse elemento, é utilizado na indústria de cerâmica, mineração, fabricação de óculos e fármacos. Naturalmente, o Se pode ser encontrado principalmente em rochas, ligado a matérias orgânicas em solos e liberado em erupções vulcânicas na forma de H_2Se . É associado também às proteínas, aminoácidos e metabólitos intermediários (SHARMA, *et al.*, 2015). Devido a essa associação biológica, esse elemento é considerado um micronutriente essencial para humanos e animais, sendo que sua deficiência pode causar problemas nos sistemas de defesa, no combate a radicais livres e redução da fertilidade. Para suprir essa deficiência, têm se fortificado alimentos e fertilizantes com esse elemento (BHATIA, *et al.*, 2013). No entanto, em um nível um pouco acima da essencialidade, o Se começa a apresentar características tóxicas, podendo causar câncer de próstata e fígado e inibição do crescimento celular. Esses efeitos devem-se principalmente à similaridade química com enxofre, podendo ocorrer a substituição desse último pelo Se nas proteínas. As espécies inorgânicas são mais tóxicas do que as orgânicas, sendo que o Se (VI) é mais tóxico do que o Se (IV). Nesse caso, o Se inorgânico sofre reação química com tióis, originando radicais livres no meio celular (SANTOS, *et al.*, 2015). As espécies

orgânicas de Se são produtos das espécies inorgânicas metabolizadas por animais e plantas, sendo que as principais espécies são selenoaminoácidos, por exemplo, selenometionina, selenocistina selenocisteína e selenocistamina (SUN, *et al.*, 2004). Devido às diferenças de toxicidade das espécies orgânicas e inorgânicas de As e Se, têm-se ganhado destaque na literatura o estudo de especiação das espécies desses elementos, fazendo-se uso de técnicas de separação hifenadas ou não com técnicas de determinação elementar, tais como a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas com fonte de plasma (HPLC-ICP-MS) (ZHAO, *et al.*, 2015; BHATIA, *et al.*, 2013).

Os elementos Cd, Cr e Pb são contaminantes extremamente tóxicos e persistentes. Nas últimas décadas, devido as atividade antropogênicas, as concentrações desses metais no solo têm crescido, causando grandes impactos ambientais. A contaminação do solo por metais pesados prejudica o crescimento das plantas, pois esses metais, apesar de não serem nutrientes, são absorvidos pelos vegetais, acumulando em sua estrutura fisiológica. Além disso, esses elementos causam impactos negativos sobre os micro-organismos presentes no solo (GONZÁLEZ, *et al.*, 2014). Um desses metais pesados potencialmente tóxicos é o Cd, sendo esse um elemento encontrado em pequenas concentrações no solo e abundante em rochas ígneas e metamórficas. A contaminação dos solos por Cd ocorre por deposição atmosférica, mineração e despejo de efluentes industriais (MCLAUGHLIN, *et al.*, 1999). Aplicações sucessivas de fertilizantes minerais e orgânicos feitas a partir de lodo de esgoto têm contribuído para o acúmulo desse metal em solos agrícolas (WANG, *et al.*, 2014). O excesso de Cd no organismo pode levar à insuficiência renal e prejudica a reabsorção de proteínas e carboidratos. Casos extremos de toxicidade crônica por elemento podem levar a osteomalácia e

fratura dos ossos. Além disso, é considerado um composto carcinogênico, de acordo com a Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (MCLAUGHLIN, *et al.*, 1999; FRENTIU, *et al.*, 2015).

Outro elemento potencialmente tóxico é o Cr, sendo esse um elemento amplamente distribuído pela crosta terrestre, constituindo, principalmente, os materiais do solo, em uma concentração de 10 a 150 mg kg⁻¹. Solos derivados de rochas são particularmente ricos em Cr (III). No entanto, emissões antropogênicas de Cr, como refino de minerais, produção de aço e ligas, fabricações de couro, tintas e queimas de carvão e combustíveis fósseis têm contribuído para a poluição do ambiente (HAN, *et al.*, 2004). O Cr (III) é uma espécie considerada essencial para humanos, atuando na regulação do metabolismo da glicose (CUBADDA, *et al.*, 2003). No entanto, a sua biofortificação não é viável, pois as plantas são potenciais acumuladoras de Cr (III) e Cr (VI), sendo que essa última espécie desperta uma enorme preocupação ambiental, pois é altamente carcinogênica, um contaminante perigoso em águas, e altamente tóxica para plantas, causando danos no DNA e inibindo a germinação das sementes (ALLUÉ, *et al.*, 2014).

O Pb é comumente encontrado em mica, feldspato e em minerais fosfatados. Em solos não contaminados, sua concentração pode variar entre 20 e 50 mg kg⁻¹. A contaminação do solo pode ocorrer por deposição atmosférica do material particulado proveniente da queima da gasolina que contém aditivos à base de Pb, atividades industriais, adição de defensivos agrícolas e por fertilizantes (MCLAUGHLIN, *et al.*, 1999). Esse tipo de contaminação, por sua vez, pode levar à absorção de Pb pelas plantas pois, apesar de não ser um micronutriente essencial, os vegetais têm a capacidade de acumular esse contaminante em sua estrutura, incluindo as utilizadas para consumo humano (HUANG, *et al.*, 2012). A ingestão de

Pb pelo consumo de água ou alimentos contaminados provoca danos renais e cerebrais em indivíduos adultos. A contaminação por Pb pode levar ao desenvolvimento de doenças físicas e mentais, tais como o déficit de atenção, pressão alta e problemas renais (HAZER, *et al.*, 2009). Para as crianças os efeitos são mais danosos ainda, podendo acumular nos ossos e levar a problemas no sistema nervoso central, com perda de atividade intelectual, agressividade, e em casos de contaminação aguda, a morte (OLYMPIO, *et al.*, 2010).

1.3 Métodos de determinação elementar em fertilizantes

No geral, nos métodos utilizados para determinações elementares, como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP MS), espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS), em chamas (F AAS) e geração de hidretos (HG AAS), as análises são feitas, frequentemente, com introdução das amostras na forma de soluções aquosas, com o analito na forma iônica livre. Esses métodos garantem maior representatividade do material analisado, devido às maiores massas de amostra tomadas para análise, facilitam a introdução do analito, pois utilizam o sistema de nebulização pneumática ou amostragem discreta de um volume conhecido, e também a calibração do instrumento que pode ser feita no modo externo, com soluções analíticas de referência (MONTASER, 1998). Diante dessa problemática, é necessário o uso de técnicas adequadas para a solubilização das amostras. As técnicas mais

comumente utilizadas para o preparo de amostras são a digestão em fornos com aquecimento assistido por micro-ondas, calcinação, fusão e extrações do tipo sólido-líquido, com uso de aquecimento por micro-ondas, ultrassom, agitação, etc (KUBRAKOVA, 2013).

A digestão com aquecimento assistido por radiação micro-ondas tem se mostrado mais rápida, eficiente e segura em comparação a outras digestões convencionais, por exemplo, com aquecimento resistivo (AGAZZI & PIROLLA, 2000). O processo pode ocorrer em sistema aberto ou fechado. Os sistemas fechados são mais eficientes devido às elevadas temperaturas possíveis de se atingir, além de evitarem a contaminação da amostra. No entanto, a possibilidade de atingir elevadas pressões exige sistema eficiente para esse controle. Além disso, o uso de reagentes é diminuído, o que confere maior segurança, com diminuição dos resíduos gerados, contribuindo para a química verde e, conseqüentemente, dos custos de análise. O tempo de digestão é bem menor quando comparado com outras digestões, por exemplo, com uso de aquecimento resistivo, além de gerar procedimentos mais reprodutíveis (KUBRAKOVA, 2013; AGAZZI & PIROLA, 2000). Devido às vantagens apresentadas, o uso da digestão assistida por micro-ondas é bastante explorada na literatura para preparo de amostras de fertilizantes. Devido à complexidade da matriz de fertilizantes minerais, foi reportada a necessidade da otimização das misturas ácidas utilizadas na digestão assistida por micro-ondas para a determinação de elementos traço, macro e micronutrientes para posterior determinação por ICP OES (SOUZA, *et al.*, 2014). Também foram reportados estudos comparativos de métodos propostos por agências internacionais para determinação de elementos potencialmente tóxicos em fertilizantes minerais, produzidos nacionalmente, com posterior detecção por ICP OES (SILVA, *et al.*,

2014). Esse tipo de preparo de amostra também foi utilizado para amostras de solos, tratadas com lodo de esgoto como fertilizantes orgânico, para a determinação de elementos traços por ICP OES (NOGUEIROL, *et al.*, 2013).

Alternativamente, a extração assistida por ultrassom tem sido muito recomendada para o preparo de amostras de diferentes naturezas visando às determinações elementares. As técnicas mais utilizadas para determinações elementares provenientes da extração assistida por ultrassom são a F AAS e a GF AAS. Contudo, o uso de técnicas espectrométricas baseadas em medidas de emissão, com preparo de amostras por extração com ultrassom, tem crescido nos últimos anos, tais como a ICP OES e ICP-MS (BENDICHO, *et al.*, 2012).

Por ser uma matriz muito complexa e de difícil dissolução, as determinações elementares em solos e fertilizantes, com preparo de amostras baseado na extração assistida por ultrassom tem ganhado destaque na literatura (BENDICHO, *et al.*, 2012). Para a detecção de elementos em níveis de traços em solo, foi reportado o uso de método por espectrometria de fluorescência de Raios-X com reflexão total (TXRF), com LODs na ordem de $\mu\text{g g}^{-1}$. Uma porção da solução extratora era amostrada e depois submetida a aquecimento, de modo que houvesse evaporação do solvente para posterior análise (DE LA CALLE, *et al.*, 2013). A extração por ultrassom foi utilizada no preparo de amostras para a determinação de mercúrio em fertilizantes minerais, utilizando-se a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES). Para verificar-se a eficiência do uso dessa técnica, foi utilizada a técnica de CV AAS para comparação dos resultados (LIMA, *et al.*, 2015). Também foi realizada determinação de arsênio em fertilizantes minerais, por HG AAS, com a utilização de um banho ultrassônico para a extração desse analito. Estudos de otimização do preparo de amostra e estudos de interferência na

determinação de arsênio foram feitos para validação do método (REZENDE & COELHO, 2014). Também foram realizadas determinações multielementares de Cd, Cr e Pb em fertilizantes minerais a partir de extrações assistidas por ultrassom, utilizando-se um banho ultrassônico e determinação por GF AAS (REZENDE & COELHO, 2014) e determinação de Cd, Cu e Pb em fertilizantes minerais, com determinação por F AAS (LIMA, *et al.*, 2011). A espectrometria de absorção atômica com possibilidade de determinações sequenciais rápidas (FS AAS) também foi utilizada para determinações multielementares de Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Z em fertilizantes orgânicos. Nesse caso foi utilizado um dispositivo cup-horn para a extração assistida por ultrassom, além do uso da digestão assistida por micro-ondas como método comparativo (TEIXEIRA, *et al.*, 2014).

Nesse trabalho, foram utilizadas as técnicas de ICP OES e GF AAS para as determinações elementares. A primeira técnica foi escolhida devido à sua característica multielementar e aos LODs compatíveis com os valores exigidos pela normativa brasileira. Porém, a concentração de Se esperada no material de referência utilizado para otimização dos métodos é muito baixa, requerendo técnicas mais sensíveis, por isso foi proposta a GF AAS. Além disso, as concentrações dos elementos nas amostras poderiam estar abaixo dos LODs do ICP OES, necessitando de uma técnica mais sensível para a determinação.

A GF AAS reúne condições favoráveis para a determinação de elementos em níveis de traço, tais como baixo limite de detecção (na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$), boa seletividade e sensibilidade (NAOZUKA & OLIVEIRA, 2006). Essas características são devido ao tipo de atomizador utilizado, um forno de grafite, que permite com que toda a amostra depositada no interior do tubo de grafite seja processada e os elementos de interesse atomizados em um curto espaço de tempo, em uma

atmosfera inerte. Aliado a isso, o tempo de residência dos átomos no percurso analítico é maior e os mesmos ficam confinados em uma pequena área no interior do tubo de grafite, aumentando a probabilidade de interação dos mesmos com a radiação da lâmpada. As interferências químicas e espectrais podem ser minimizadas graças a etapa de pirólise do programa de aquecimento e a correção da radiação de fundo durante a atomização (Welz & Sperling, 1999; Skoog, *et al.*, 2007). Devido à otimização do programa de aquecimento e uso do sistema de correção de fundo, a técnica pode ser utilizada para a determinação de sólidos com amostragem direta (SS GF AAS) ou na forma de suspensão (NOMURA, *et al.*, 2008).

A espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) é largamente utilizada para determinações multielementares de elementos em baixas concentrações. Nela, o plasma é fonte de energia para a atomização e excitação de íons e moléculas. O processo de atomização acontece em ambientes de temperaturas muito altas, que podem variar entre 6000K e 10000K. Além disso, para a geração do plasma é usado um meio quimicamente inerte, sendo o argônio o elemento mais utilizado para tal finalidade. Dessa maneira, as interferências químicas ou de ionização são muito pequenas. A radiação emitida, em comprimentos de onda específicos para cada elemento, é separada em policromadores, chegando a detectores de resposta rápida e de alta eficiência, como os CCD ou CID. A intensidade de radiação emitida a partir do plasma é proporcional a concentração do analito de interesse na amostra. Os limites de detecção possíveis de serem atingidos estão na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ (MANNING & GROW, 1997; MONTASER, 1998).

1.4. Ultrassonicação no preparo de amostras

As amostras de fertilizantes orgânicos podem requerer etapas de pré-tratamento preliminares para serem analisadas, pois esse tipo de material apresenta as mais variadas composições, tanto de compostos orgânicos como de inorgânicos, com tamanhos de partículas muito diferentes. Sendo assim, é necessário garantir a homogeneidade da amostra para que a porção a ser utilizada para as análises seja representativa. Nessas etapas, geralmente, são empregados métodos predominantemente físicos, tais como secagem e moagem. A moagem resulta na redução do volume da amostra além de aumentar a homogeneidade do material com a diminuição do tamanho de partícula (KRUG, 2008).

A ultrassonicação é o método de preparo de amostra que vem sendo muito utilizado em química analítica (BENDICHO, *et al.*, 2012; JÚNIOR, *et al.*, 2007). Para o tratamento de amostras, geralmente é utilizada uma faixa de frequência entre 20 e 100 kHz, denominada faixa de baixa frequência e alta potência (JUNIOR, 2005). A passagem de uma onda ultrassônica por uma mistura contendo partículas sólidas leva a solubilização ou extração de analitos devido a um fenômeno denominado cavitação, que está relacionado com ciclos de expansão e compressão de microbolhas de gases dissolvidos no solvente. As microbolhas se formam durante a passagem da onda ultrassônica pelo meio contendo a amostra e, ao atingirem a pressão máxima de resistência (pressão externa do líquido), ocorre a implosão dessas bolhas (SANTOS JÚNIOR, *et al.*, 2007). O esquema de formação das bolhas de cavitação até o momento anterior da implosão pode ser observado na Figura 1:

Figura 1. Representação dos ciclos de expansão e compressão de microbolhas com a passagem da onda acústica. Adaptação: (KRUG, 2008).

O fenômeno de cavitação é o principal fator que promove a extração sólido-líquido assistida por ultrassom, pois com a implosão das microbolhas ocorre liberação pontual de energia, possibilitando o alcance de temperaturas de até 5000K, e 2000 atm de pressão, o que favorece a formação de radicais livres com características oxidantes ($\cdot\text{OH}$ e $\cdot\text{O}_2\text{H}$), que auxiliam, em alguns casos, no processo de decomposição de matéria orgânica. Além disso, o processo de implosão das microbolhas melhora o transporte e a penetração do solvente na amostra. Ocorre também a projeção de micro jatos a altas velocidades, o que fragmenta as partículas, renova suas áreas superficiais e diminui o tamanho de partícula (De La Calle, *et al.*, 2009; Bendicho, *et al.*, 2012). O colapso da superfície sólida está representado no desenho esquemático da Figura 2.

Figura 2. Representação da diminuição do tamanho de partícula de um sólido durante a ultrassonicação: A – Pequenas bolhas de gás na superfície do sólido; B – Fenômeno de cavitação de gás sobre a superfície do sólido; C – Implosão das bolhas e divisão do sólido; D – Separação das novas partículas formadas.

Para uma boa eficiência do fenômeno de cavitação, deve-se salientar que há fatores físico-químicos que influenciam diretamente na eficiência desse processo de cavitação, como a intensidade do ultrassom, pressão e temperatura do meio, viscosidade, pressão de vapor do líquido, presença de gases dissolvidos, entre outros (SANTOS JUNIOR, 2005).

Dentre os dispositivos ultrassônicos mais utilizados para fins analíticos destacam-se o banho ultrassônico, a sonda ultrassônica e o modelo cup-horn. O dispositivo mais comumente utilizado em laboratórios químicos é o banho ultrassônico, principalmente por ter as vantagens de ser um equipamento de baixo custo e por possibilitar o tratamento simultâneo de várias amostras. Nesse dispositivo, as ondas têm incidência indireta na amostra, ou seja, ela é transmitida através da água colocada dentro do equipamento. Uma das desvantagens desse aparelho é que esse apresenta potência de radiação baixa (1 a 5 W cm^{-2}), além de distribuição não homogênea das ondas ultrassônicas por todo o banho, sendo necessária a verificação da região de maior incidência de ondas ultrassônicas. Essa distribuição, normalmente, é verificada com o auxílio de uma folha de papel

alumínio, sendo que pequenas perfurações são observadas nas regiões onde há maior intensidade das ondas ultrassônicas (SANTOS & CAPELO, 2007).

Outro dispositivo largamente utilizado para extrações assistidas por ultrassom é a sonda ultrassônica, onde um transdutor ultrassônico é acoplado a uma sonda que comumente é composta por titânio que é submersa no líquido extrator que contém a amostra, ou seja, a incidência da radiação se dá de forma direta. Com isso, a distribuição das ondas ultrassônicas ao longo da amostra é homogênea. Além disso, as potências utilizadas para esse tipo de instrumento é de 50 – 200 W cm⁻². Esse fato traz a grande vantagem do emprego de menores tempos de extração. Contudo, a grande desvantagem desse modelo é a possibilidade de gerar contaminação da amostra, se ocorrer a lixiviação do material da sonda, liberando partículas da mesma para a solução extratora. Com isso, para minimizar os danos no equipamento, deve-se observar a natureza da solução extratora, de modo a não ocorrer danos no equipamento, além do uso de uma sonda de titânio. Outra desvantagem desse modelo é o fato de preparo de apenas uma amostra por vez, o que diminui a frequência analítica (CAPELO, et al., 2005).

O mais recente modelo utilizado para extração assistida por ultrassom é o cup-horn, que pode ser considerado como um modelo de características intermediárias entre a sonda e o banho ultrassônico. Esse permite a extração de até 8 amostras simultâneas, enquanto que na sonda há a possibilidade de realizar-se apenas uma extração por vez. Além disso, como no banho ultrassônico, a incidência das ondas ultrassônicas é indireta, eliminando as chances de contaminação e de danificação do dispositivo, possibilitando assim o uso de ácidos mais concentrados. Outra vantagem desse dispositivo está na potência de trabalho empregada, sendo

maior do que a utilizada no banho (50 W cm^{-2}), fazendo com que os tempos de extração utilizados sejam menores (TEIXEIRA, *et al.*, 2014).

Sendo assim, a escolha do dispositivo é importante para a eficiência da extração sólido-líquido assistida por ultrassom. Porém, não é o único fator que determina eficiência desse tipo de extração. Fatores como massa e tipo de amostra, natureza e concentração de componentes na solução extratora, tempo de extração, temperatura do banho e da solução, tamanho de partícula e frequência analítica também precisam ser levados em consideração.

Um dos fatores mais importantes a serem otimizados é o tempo de extração, que por sua vez está diretamente relacionado com a potência aplicada. No geral, menores tempos são empregados nas sondas ultrassônicas, seguido pelo modelo cup-horn e pelo banho ultrassônico. Além disso, menores tempos são aplicados em amostras orgânicas do que em amostras inorgânicas. Estudos recentes reportados na literatura mostram a importância da otimização de tempo como forma de melhorar a frequência analítica da extração. (DE LA CALLE, *et al.*, 2009; DE LA CALLE, *et al.*, 2013). Outro fator tão importante quanto a otimização de tempo é a escolha de soluções extratoras, bem como a concentração de seus componentes. Geralmente, utilizam-se ácidos, misturas de ácidos acompanhadas ou não de H_2O_2 . Os ácidos têm sido largamente utilizados, pois em meios básicos pode ocorrer reabsorção de analitos (MÉNDEZ, *et al.*, 2002), além da precipitação de alguns elementos na forma de hidróxidos insolúveis. As escolhas desses parâmetros também variam de acordo com a amostra a ser utilizada (SANTOS JÚNIOR, *et al.*, 2007). Também se pode fazer a otimização da massa de amostra, já que massas diminutas podem influenciar nos resultados, com alto desvio padrão devido à falta de homogeneidade inerente às pequenas massas de amostra. Por outro lado, massas muito grandes podem causar

aglomerações de material, o que pode atrapalhar a eficiência de extração (DE LA CALLE, *et al.*, 2009).

Diante das características apresentadas, a extração assistida por ultrassom pode ser uma alternativa ao preparo de amostra, já que ela possibilita a solubilização do analito em condições brandas de temperatura e pressão, além do emprego de baixas quantidades de solventes, tempo de extração relativamente curtos, quando comparados aos procedimentos convencionais de digestão, elevada segurança operacional e moderado risco de perdas e contaminações. Essas características enquadram a extração na maioria dos princípios da química verde (BENDICHO, *et al.*, 2012; TEIXEIRA, *et al.*, 2014).

2. Objetivo

O objetivo dessa pesquisa é o desenvolvimento de métodos analíticos com extração assistida por ultrassom para a determinação de As, Cd, Cr, Pb e Se em fertilizantes base orgânica por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

3. Materiais e Métodos

3.1 Instrumentação

Visando a determinação simultânea de As, Cd, Cr, Pb e Se foi utilizado um ICP OES (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, Inglaterra), modelo iCAP 6300 Duo, equipado com fonte de radiofrequência de 27,12 MHz, que permite ajuste da potência aplicada de 750 a 1350 W, policromador Echelle com densidade óptica de 52,19 linhas/mm, óptica purgada com argônio, que permite intervalo de trabalho de 166,25 a 847,0 nm, distância focal de 383 mm, com possibilidade de medida no modo de vista axial e/ou radial, e detector simultâneo CID (Charge Injection Device). O gás utilizado para purgar a óptica e formar o plasma foi argônio 99,998% (v v⁻¹) (Oxilúmen, São Paulo, SP). O sistema de introdução utilizado foi um nebulizador Burgener Mira Mist®, câmara de nebulização do tipo ciclônica e tocha de quartzo do tipo desmontável, com diâmetro do canal central de 2,0 mm.

Para determinações abaixo dos limites de quantificação do ICP OES nas extrações assistidas por ultrassom foi utilizado um GF AAS, modelo ZEE nit® 60 (AnalytikjenaAG, Jena, Alemanha), equipado com corretor baseado no efeito Zeeman, com possibilidade de ajuste para correções de fundo em 2 e 3 campos, atomizador recoberto com grafite pirolítico aquecido transversalmente e plataforma integrada PIN, de grafite pirolítico. Os resultados foram expressos em valores de absorbância integrada (integral da área do pico pelo tempo), obtidos pelo software WinAAS, Versão 4.7.7.0. O gás de purga e protetor do tubo de grafite foi argônio 99,998% (v v⁻¹) (Oxilúmen, São Paulo, Brasil). Utilizaram-se as lâmpadas de cátodo de As ($\lambda = 193,7$ nm, $i = 4,0$ mA, resolução espectral = 0,8 nm), Cr ($\lambda = 357,9$

nm, $i = 4,0$ mA, resolução espectral = 0,8 nm), Cd ($\lambda = 228,8$ nm, $i = 4,0$ mA, resolução espectral = 0,8 nm), Pb ($\lambda = 283,3$ nm, $i = 4,0$ mA, resolução espectral = 0,8 nm) e Se ($\lambda = 196,0$ nm, $i = 6,0$ mA, resolução espectral = 1,2 nm) como fontes de radiação.

Para os estudos de extrações assistidas por ultrassom, foram utilizados um banho ultrassônico com capacidade para 2 L, modelo 75 D (VWR Scientific Instruments, Acqua Sonic, EUA), com frequência de 40 kHz e potência média dos transdutores de 90 W e um dispositivo ultrassônico modelo UP100H, ajustado com 100% de amplitude (Hielscher, Alemanha), acoplado com uma sonda ultrassônica MS7 micro tip 7, com diâmetro de 7 mm e potência acústica de 50 W.

Para a digestão das amostras foi utilizado um forno de micro-ondas de alta pressão, modelo UltraWAVE (Milestone, Connecticut, EUA), com pré-pressurização da cavidade com nitrogênio (máximo 200 bar e 300 °C) para contrabalançar a pressão gerada no interior dos frascos de digestão, equipado com 12 frascos de digestão de 20 mL, de politetrafluoroetileno.

Para a secagem das amostras foi utilizado um Liofilizador Thermo Moduly OD freeze dryee (pressão < 1 mbar e temperatura mínima de -40 °C) (Thermo Fischer Scientific, EUA).

Para moagem das amostras foi utilizado um moinho automático de almofariz e pistilo, modelo RM 200 (Retsch, Haan, Alemanha).

Uma centrífuga para tubos, modelo Q 222T (Quimis Equipamentos Científicos, São Paulo, SP), com capacidade para 8 tubos de 15 mL, foi utilizada com uma velocidade de rotação de 1000 rpm para separar o sobrenadante das amostras sólidas.

Uma balança analítica da marca Mettler Toledo, com precisão analítica de até 0,0001g foi utilizada para a pesagem das amostras.

3.2 Reagentes e soluções

Soluções estoque em concentrações de 1000 mg L⁻¹ de arsênio (As₂O₅), cádmio (CdCl₂), cromo (CrCl₃), chumbo (Pb(NO₃)₂) e selênio (SeO₂) (Titrisol Merck, Darmstadt, Alemanha) foram utilizadas para a preparação das soluções analíticas de referência, após diluições adequadas em meio de HNO₃ (Merck) ou HCl (Merck).

Para a otimização dos programas de aquecimento no GF AAS, foram utilizadas soluções analíticas de 25 µg L⁻¹ de As³⁺, 2 µg L⁻¹ de Cd²⁺, 20 µg L⁻¹ de Cr³⁺, 10 µg L⁻¹ de Pb²⁺ e 100 µg L⁻¹ de Se⁴⁺, sendo que todas estavam em 0,1% (v v⁻¹) de HNO₃. Essas soluções foram obtidas a partir da diluição sucessivas das soluções estoques de 1000 mg L⁻¹.

Para o preparo do modificador químico, foram utilizadas soluções de Mg²⁺ (Mg(NO₃)₂) 1000 mg L⁻¹ (Merck) e Pd²⁺ (Pd(NO₃)₂) 10000 mg L⁻¹ (Sigma Aldrich).

Para as extrações em ultrassom, foram utilizados os reagentes HNO₃ 65% (m v⁻¹) e HCl 37% (m v⁻¹) (Merck).

Para a digestão por micro-ondas, além do HNO₃ 65% (m v⁻¹), foram utilizados HF 40% (m v⁻¹) (Merck) e HBO₃ (Sigma Aldrich).

3.3 Amostras

Para as otimizações das extrações assistidas por ultrassom, foi utilizado o material de referência certificado (CRM) de lodo de esgoto (Sewage Sludge 2, Lote

0135883, Sigma Aldrich). Para a otimização do programa de aquecimento em GF AAS, foi utilizada uma amostra de fertilizante (Lote: 0409), fornecida pela Associação Brasileira de Insumos para Agricultura Sustentável (INPAS).

Após otimização do método foram feitas as determinações dos elementos de interesse em 4 amostras fornecidas pelo laboratório da INPAS: condicionador (Lote: 260913-3), condicionador de solo (Lote: 2505), substrato de solo (Lote: 270913-1) e fertilizante (Lote: 0409).

3.4 Procedimentos Experimentais

Toda a vidraria e recipientes para a armazenagem de soluções foram lavados com detergente, posteriormente imersos durante 24 horas em solução de HNO_3 10% (v v^{-1}), enxaguados com água deionizada, secos em capela de fluxo laminar e guardados em compartimento fechado

Todas as soluções foram preparadas empregando-se água deionizada em sistemas de ultrapurificação Milli-Q® (Milipore, Bedford, MA, EUA), permitindo obter água com elevado grau de pureza (18,2 $\text{M}\Omega\text{ cm}$).

3.4.1. Otimização dos programas de aquecimento por GF AAS

As determinações em GF AAS demandam a otimização do programa de aquecimento para análise, no qual se devem estabelecer as melhores temperaturas de pirólise e atomização, os tempos de rampa e patamar, bem como o uso ou não de modificador químico. A partir de trabalhos previamente realizados pelo grupo (CARIONI, 2014; CORREIA & OLIVEIRA, 2005; MENEZES, 2013), foram feitas as

otimizações dos programas de aquecimento para cada um dos elementos de interesse (As, Cd, Cr, Pb e Se), de modo a se obter as temperaturas de pirólise e atomização adequadas para a análises nas amostras. No geral, as melhores temperaturas devem ser escolhidas de modo a eliminar as interferências espectrais e de matriz. Durante a otimização da pirólise busca-se a maior temperatura, antes que ocorram perdas do analito por volatilização. Esta etapa é importante não somente para eliminar potenciais interferentes, mas também para a formação dos precursores atômicos que darão origem aos átomos livres no estado fundamental. Essa condição é observada com as medidas dos sinais de absorbância integrada, escolhendo, preferencialmente, o de maior valor para a maior temperatura que precede a perda de sinal analítico.

Além das otimizações das temperaturas de pirólise e atomização, deve-se observar o perfil transiente do sinal de absorbância gerado e o desvio padrão relativo entre as medidas, na escolha da melhor condição do programa. É importante que esse perfil de sinal tenha o comportamento de uma curva de distribuição normal. Perfis diferentes desses, geralmente, indicam que a atomização não ocorre de maneira uniforme e que pode ter sido formado vários precursores químicos do analito (WELZ & SPERLING, 1999). Para a obtenção das curvas de pirólise para os elementos, utilizaram-se soluções analíticas de referência dos elementos ($20 \mu\text{g L}^{-1}$ de As^{3+} , $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd^{2+} , $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr^{3+} , $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb^{2+} e $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{4+} em meio de 0,1% v/v de HNO_3) e também no meio das amostras, soluções do sobrenadante resultante da extração de fertilizante em meio de 3% (v v⁻¹) de HNO_3 , com tempo de extração de 50 minutos no banho ultrassônico. É importante a obtenção das curvas em meio da amostra para verificar alterações no comportamento térmico do elemento provocado pela matriz. No caso das curvas de

atomização, procura-se a melhor eficiência na menor temperatura, com o objetivo de preservar a vida útil do tubo de grafite. As curvas de atomização foram obtidas com as mesmas soluções utilizadas para obtenção das curvas de pirólise.

3.4.2. Condições de operação do ICP OES

Os parâmetros instrumentais utilizados no ICP OES também foram baseados em trabalhos anteriores realizados no grupo (NAOZUKA, *et al.*, 2011) e da literatura (MERMET & POUSSEL, 1995). As condições adotadas para as determinações de As, Cd, Cr e Pb por ICP OES estão representados na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros instrumentais utilizados na análise por ICP OES.

Parâmetro	Condição adotada
Potência de Radiofrequência	1250 W
Orientação da tocha	Modo Duo (Axial e Radial)
Rotação da bomba	25 rpm
Vazão do gás de nebulização	0,57 L min ⁻¹
Vazão do gás auxiliar	1,0 L min ⁻¹
Vazão do gás do plasma	12 L min ⁻¹
Tempo de integração	Alto comprimento de onda: 5 s Baixo comprimento de onda: 15 s
Câmara de expansão	Ciclônica resistente a HF
Nebulizador	Burgener Mira Mist®
Comprimentos de onda*	As (I) 189,042 nm Cd (II) 226,502 nm Cr (II) 283,563 nm Pb (II) 220,353 nm

* (I) linha de emissão atômica; (II) linha de emissão iônica

Durante a escolha dos comprimentos de onda, foram observadas as variações nas razões sinal/ruído e a existência de bandas espectrais provocadas pela matriz ou a existência de possíveis sobreposições das linhas escolhidas.

3.4.3. Condições das extrações assistidas por ultrassom

As otimizações de tempo, concentrações de ácidos e massa de amostra nas extrações assistidas por ultrassom com ácidos diluídos, foram feitas nas seguintes condições:

a) Sem uso de ultrassom - As soluções foram deixadas em repouso sem serem colocadas em dispositivos ultrassônicos.

b) Banho ultrassônico - As soluções foram submetidas à extração no banho ultrassônico. A região em que os tubos contendo as amostras deveriam ser posicionadas foi determinada pelo teste com folha de alumínio, que consiste em mergulhar uma folha de alumínio no banho durante tempo suficiente para que as ondas ultrassônicas promovessem o desgaste físico nessa folha (SANTOS JUNIOR, 2005). A região onde esse desgaste foi mais pronunciada foi selecionada para a permanência das amostras durante o experimento.

c) Extração indireta por sonda - Adaptou-se, em laboratório, um recipiente cilíndrico de modo que dentro desse recipiente fosse colocada água o suficiente para a formação de um banho ultrassônico. A sonda ultrassônica foi colocada no centro desse banho. Para isso, foi feita uma abertura na parte central da tampa do recipiente, para que fosse inserida a sonda, e quatro aberturas localizadas nas extremidades da tampa, para que fossem inseridos tubos Falcon (15 mL) com a solução extratora e a amostra. Uma foto do sistema contendo a sonda, banho e

dispositivo (bomba de aquário) para borbulhamento de ar está representado na Figura 3. Um esquema do que ocorre durante a extração está representado na Figura 4.

d) Extração indireta por sonda com borbulhamento de ar - Utilizou-se o dispositivo, conforme mostrado nas Figuras 3 e 4, com capilar adaptado na tampa do tubo Falcon, conectado a uma bomba de aquário para borbulhamento de ar atmosférico na solução extratora contendo a amostra, de modo que a mistura permanecesse em agitação constante durante a sonicação.

Figura 3. Fotografia do sistema utilizado para as extrações indiretas por sonda com e sem borbulhamento: (A) Sonicação com borbulhamento: e (B) Sonicação sem borbulhamento.

Figura 4. Desenho esquemático do sistema utilizado para as extrações indiretas por sonda com e sem borbulhamento: (A) Sonicação com borbulhamento; e (B) Sonicação sem borbulhamento.

Na Figura 5 está representado o perfil do material sólido da amostra durante a ultrassonicação, na ausência de borbulhamento e na presença de borbulhamento com ar atmosférico com auxílio de bomba de aquário. A condição de borbulhamento de ar atmosférico permitiu manter a amostra em uma suspensão homogênea durante todo o tempo da extração.

Figura 5. Perfil do material sólido nas extrações por ultrassom: (A) Sem borbulhamento; e (B) Com borbulhamento de ar atmosférico.

As otimizações de tempo, de concentração e tipo de ácidos e massa de amostra nas extrações assistidas por ultrassom (com banho ou indireta com sonda), foram feitas seguindo as condições descritas no item 3.4.3 (b) e (c).

3.4.4. Otimização dos parâmetros das extrações assistidas por ultrassom com soluções de ácidos diluídos

Nas descrições dos experimentos seguintes estão apresentados os experimentos realizados para investigar as melhores condições de concentração de HNO_3 ou HCl , tempo de sonicação e massa de amostra, usando banho ultrassônico

ou com o sistema de extração indireta com sonda ultrassônica, descrito nas Figuras 3 e 4, com e sem borbulhamento de ar atmosférico.

3.4.4.1. Otimização das concentrações dos ácidos diluídos

Em tubos Falcon de 15 mL, pesaram-se massas de 30 a 40 mg de CRM em balança analítica. Posteriormente, foram adicionados 10 mL de soluções extratoras compostas por HNO_3 ou HCl , nas seguintes concentrações: 0,5%; 1,0%; 2,0%; 5,0% e 10% ($v\ v^{-1}$). Após as adições, agitaram-se os frascos manualmente de modo que as amostras ficassem momentaneamente em suspensão. Vedaram-se todos os frascos e procedeu-se então com as extrações, no banho ultrassônico e no sistema para extração indireta com sonda, com e sem agitação com ar atmosférico, por um tempo, previamente determinado, de 10 minutos. Findo o tempo, as amostras foram centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises dos sobrenadantes. Foi feita uma extração para cada concentração de ácido e as medidas instrumentais, no ICP OES para As, Cd, Cr e Pb e GF AAS para Se foram feitas em triplicata.

3.4.4.2. Otimização do tempo de extração com ácidos diluídos

Em tubos Falcon de 15 mL, pesaram-se massas de 30 a 40 mg de CRM em balança analítica. Posteriormente, foram adicionados 10 mL de soluções extratoras compostas por HNO_3 ou HCl nas concentrações de 2% ($v\ v^{-1}$). Após as adições, agitaram-se os frascos manualmente de modo que as amostras ficassem momentaneamente em suspensão. Vedaram-se todos os frascos e procedeu-se então com as extrações, no banho ultrassônico e no sistema para extração indireta

com sonda, sem e com agitação com ar atmosférico, nos tempos de 5, 10, 20, 30, 40 e 60 minutos. Findo o tempo, as amostras foram centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises dos sobrenadantes. Foi feita uma extração para cada condição de tempo e as medidas instrumentais, no ICP OES para As, Cd, Cr e Pb e GF AAS para Se foram feitas em triplicata.

3.4.4.3. Otimização da massa de amostra nas extrações com ácidos diluídos

Em tubos Falcon de 15 mL, pesaram-se massas de 16, 30, 60, 90 e 120 mg de CRM em balança analítica. Posteriormente, foram adicionados 10 mL de soluções extratoras compostas por HNO₃ ou HCl na concentração de 2% (v v⁻¹). Após as adições, agitaram-se os frascos manualmente de modo que as amostras ficassem momentaneamente em suspensão. Vedaram-se todos os frascos e procedeu-se então com as extrações, no banho ultrassônico e no sistema para extração indireta com sonda, sem e com agitação com ar atmosférico, mantendo-se o tempo de sonicação fixo em 10 minutos. Findo o tempo, as amostras foram centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises dos sobrenadantes. Foi feita uma extração para cada condição e as medidas instrumentais, no ICP OES para As, Cd, Cr e Pb e GF AAS para Se foram feitas em triplicata.

3.4.4.4. Avaliação de soluções extratoras compostas por misturas dos ácidos diluídos

Em tubos Falcon de 15 mL, pesaram-se massas de 30 a 40 mg de CRM em balança analítica. Posteriormente, foram adicionados 10 mL de soluções extratoras compostas por HNO₃ e HCl, de acordo com a relação da Tabela 3.

Tabela 3. Proporções dos ácidos utilizadas no estudo extrações de misturas de ácidos diluídos.

Solução	HNO ₃ : HCl	Conc. HNO ₃ (v v ⁻¹)	Conc. HCl (v v ⁻¹)
1	1:1	1,0	1,0
2	3:1	1,5	0,5
3	1:3	0,5	1,5

Após as adições das misturas, agitaram-se os frascos manualmente de modo que as amostras ficassem momentaneamente em suspensão. Vedaram-se todos os frascos e procedeu-se então com as extrações, no banho ultrassônico e no sistema para extração indireta com sonda, com e sem agitação com ar atmosférico, por um tempo, previamente determinado, de 10 minutos. Findo o tempo, as amostras foram centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises dos sobrenadantes. Foi feita uma extração para cada uma das soluções (1,2 e 3), apresentadas na Tabela 3, e as medidas instrumentais, no ICP OES para As, Cd, Cr e Pb.

3.4.5. Otimização dos parâmetros das extrações assistidas por ultrassom com ácidos concentrados.

3.4.5.1. Otimização do volume de ácidos concentrados adicionados diretamente na amostra

Em tubos Falcon de 15 mL, pesaram-se massas de 30 a 40 mg de CRM em uma balança analítica. Posteriormente, foram adicionados os seguintes volumes de HNO_3 ou HCl diretamente nas amostras: 100, 200, 500 e 1000 μL , de modo que as concentrações finais dos ácidos no sobrenadante, após a extração e diluição, ficassem nas seguintes proporções: 1,0%; 2,0%; 5,0% e 10% ($v v^{-1}$). Após a vedação de todos os frascos, as extrações foram feitas em duas condições: na primeira, a diluição foi feita posteriormente à sonicação (DPE), enquanto que na segunda, a diluição foi feita anteriormente à sonicação (DAE), conforme descrito no item 3.4.4.1 e representado na Figura 6.

Figura 6. Preparo de amostras para extrações assistidas por ultrassom com adição direta de ácido: diluição posterior à extração (DPE); e diluição anterior à extração (DAE).

Procedeu-se então com a extração nos tempos de 10 minutos nas condições de banho ultrassônico e no sistema para extração indireta com sonda. Nos casos de DAE, devido ao pequeno volume de amostra e a dificuldade de agitação da suspensão por borbulhamento de ar, não foi feita a agitação. Findo o tempo de 10 minutos de sonicação, as amostras de ácidos concentrados foram diluídas e todas (DPE e DAE) centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises dos

sobrenadantes. Foi feita uma extração para cada condição e as medidas instrumentais, no ICP OES para As, Cd, Cr e Pb e GF AAS para Se foram feitas em triplicata.

3.4.5.2. Otimização do tempo nas extrações com ácidos concentrados

Em tubos Falcon de 15 mL, pesaram-se massas de 30 a 40 mg de CRM em balança analítica. Posteriormente, foram adicionados 200 μ L de HNO₃ ou HCl diretamente nas amostras, de modo que as concentrações finais de ácidos (após a extração e diluição), nas soluções extratoras, fossem 2,0% (v v⁻¹). Procedeu-se então com as extrações, no banho ultrassônico e no sistema para extração indireta com sonda, sem agitação com ar atmosférico, nos tempos de 5, 10, 20, e 30 minutos. Todos os frascos foram vedados para a extração com ultrassonicação. Findo o tempo de sonicação, as amostras de ácidos concentrados foram diluídas e todas (DPE e DAE) centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises dos sobrenadantes. Foi feita uma extração para cada condição e as medidas instrumentais, no ICP OES para As, Cd, Cr e Pb e GF AAS para Se foram feitas em triplicata.

3.4.5.3. Otimização da massa de amostra nas extrações assistidas por ultrassom com ácidos concentrados

Em tubos Falcon de 15 mL, pesaram-se massas de 16, 30, 60, 90 e 120 mg de CRM em balança analítica. Posteriormente, foram adicionados 200 μ L de HNO₃ ou HCl diretamente nas amostras, de modo que as concentrações finais de ácidos

(após a extração e diluição), nas soluções extratoras fossem 2,0% (v v⁻¹), e agitação durante 10 minutos. Findo o tempo de sonicação, as amostras ultrassonicadas com ácidos concentrados foram diluídas a 10 mL e todas (DPE e DAE) centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises dos sobrenadantes. Foi feita uma extração para cada condição e as medidas instrumentais, no ICP OES para As, Cd, Cr e Pb e GF AAS para Se foram feitas em triplicata.

3.4.6. Estimativa das figuras de mérito dos métodos propostos com extrações assistidas por ultrassom

Encontradas as melhores condições para extração e determinações dos elementos de interesse foram estimados os limites de detecção, quantificação, precisão e exatidão.

Para a estimativa dos limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) em GF AAS, foram realizadas 10 leituras do branco, em meio de 2% (v v⁻¹) e 10% (v v⁻¹) de HNO₃ e calculados com base nas Equações 1 e 2, sendo α o coeficiente angular da curva de calibração e SD o desvio padrão das n=10 medidas do branco:

$$\text{LOD} = 3 \text{ SD} / \alpha \quad (\text{Equação 1})$$

$$\text{LOQ} = 10 \text{ SD} / \alpha \quad (\text{Equação 2})$$

Para a estimativa do limite de detecção de As, Cd, e Pb em ICP OES, foram realizadas 10 leituras do branco em meio de 2% e 10% (v v⁻¹) de HNO₃ 2% (v v⁻¹) de HCl. Para a estimativa do LOD do Cr em ICP OES, foram realizadas 10 leituras do branco em meio de 10% (v v⁻¹) de HNO₃ e 2% (v v⁻¹) de HCl. Os LODs foram

calculados de acordo com a Equação 3, a partir do desvio padrão relativo (RSD) da leitura do branco, a concentração equivalente à radiação de fundo ($BEC = C_{sr}/SBR$) e à razão sinal/ruído ($SBR = (I_{sr} - I_{branco})/I_{branco}$), onde: C_{sr} é a concentração da solução de referência contendo Cd, Cr e Pb (1 mg L^{-1}) e As ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$), I_{sr} é a intensidade de emissão dessa solução e I_{branco} é a intensidade de emissão do branco (solução em meio ácido citadas anteriormente sem a presença de analito). Para a determinação do limite de quantificação, o LOD foi multiplicado por 10 (NAOZUKA, *et al.*, 2011).

$$LOD = 3 \text{ BEC RSD} / 100 \text{ (Equação 3)}$$

Para se verificar a precisão dos métodos desenvolvidos, as amostras de CRM foram submetidas à extração assistida por ultrassom em triplicata. Para extrações assistidas por ultrassom com ácidos diluídos, foram utilizados o banho ultrassônico e a extração indireta por sonda com auxílio de borbulhamento de ar. Para extrações em meio de 2% ($v v^{-1}$) de HNO_3 , foram pesados de 30 a 35 mg de CRM e o tempo de extração foi de 10 minutos. Para as extrações em meio de 2% ($v v^{-1}$) de HCl , foram pesados de 60 a 70 mg de CRM e o tempo de extração foi de dez minutos. Findo o tempo de sonicação, as amostras foram centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises dos sobrenadantes.

Para extrações assistidas por ultrassom com ácidos concentrados, foram utilizados o banho ultrassônica e a extração indireta por sonda. Para extrações em meio de 10% $v v^{-1}$ de HNO_3 , foram pesados de 30 a 35 mg de CRM e o tempo de extração foi de vinte minutos. Para as extrações em meio de 2% $v v^{-1}$ de HCl , foram

pesados de 60 a 70 mg de CRM e o tempo de extração foi de dez minutos. Findo o tempo de sonicação, as amostras de ácidos concentrados foram diluídas para 10 mL e todas centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises dos sobrenadantes.

3.4.7. Determinações de As, Cd, Cr, Pb e Se em amostras de fertilizantes orgânicos, substratos de solo e condicionadores

3.4.7.1. Tratamentos preliminares das amostras

Todas as amostras foram submetidas à liofilização. Massas de aproximadamente 50 g de cada amostra foram liofilizadas por 48 h, sendo que a temperatura do sistema manteve-se em torno de -40 °C e a pressão menor que 1,2 mbar. Após a liofilização, as amostras foram armazenadas em recipientes previamente descontaminados e armazenadas a 5 °C. Em seguida, as amostras secas no liofilizador foram submetidas à moagem no moinho automático de almofariz e pistilo. A altura do pistilo foi ajustada de modo que se aperfeiçoasse a eficiência da moagem. Cada amostra foi submetida aos seguintes tempos de moagem: condicionador (~45 g, 30 minutos de moagem); condicionador solo (por se tratar de uma amostra com partículas grandes, foram feitas 4 moagens de 40 minutos, com porções de aproximadamente 12,5 g cada); substrato (~45 g, 50 minutos de moagem, sendo que depois de 30 minutos, a altura do pistilo foi ajustada para mais 20 minutos de moagem); e fertilizante (~45 g, 30 minutos de

moagem, sendo que depois de 10 minutos, a altura do pistilo foi ajustada para mais 20 minutos de moagem).

3.4.7.2. Digestão das amostras por micro-ondas

O método de digestão das amostras por micro-ondas foi desenvolvido a partir de outros trabalhos do grupo e foi utilizado como método comparativo à extração assistida por ultrassom. Pesaram-se, aproximadamente, 150 mg de cada amostra em balança analítica. Foram realizadas 3 digestões de cada amostra. Para cada rodada, havia um frasco contendo a solução em branco. Foram adicionados em cada frasco 3 mL de HNO_3 65% (m v^{-1}), 2 mL de H_2O , 1 mL de HF 40% (m v^{-1}) e 200 mg de HBO_3 . O programa de aquecimento utilizado para o aquecimento do forno de micro-ondas está representado na Tabela 4.

Tabela 4. Programa de aquecimento para digestão das amostras em forno de micro-ondas.

Temperatura (°C)	Rampa (min.)	Patamar (min.)
140	05	03
180	05	03
210	04	20

3.4.7.3. *Extração das amostras assistida por ultrassom*

Para as determinações de As, Cd, Cr e Pb nas amostras, por ICP OES, foram feitas extrações por ultrassonicação com HCl concentrado usando o sistema de extração indireta por sonda sem borbulhamento. Foram pesados, em uma balança analítica, cerca de 60 a 70 mg de cada amostra em tubos Falcon de 15 mL. Em seguida, foram adicionados 200 μ L de HCl, com posterior vedação do frasco. Procedeu-se então com as extrações no tempo de 10 minutos. Findo o tempo de sonicação, as amostras foram diluídas para 10 mL e todas centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises.

Para as determinações de Se nas amostras, por GF AAS, foram feitas extrações assistidas com HNO₃ concentrado usando o sistema de extração indireta por sonda sem borbulhamento. Foram pesados, em uma balança analítica, cerca de 30 a 40 mg de cada amostra em tubos Falcon de 15 mL. Em seguida, foram adicionados 200 μ L de HNO₃, com posterior vedação do frasco. Procedeu-se então com a extração no tempo de 10 minutos. Findo o tempo de sonicação, as amostras foram diluídas para 10 mL e todas centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises.

Somente Cr foi detectado nas amostras. Sendo assim, para estimar a exatidão e verificar possíveis interferências de matriz na extração de Cr, foram feitas extrações assistidas com ácidos concentrados na condição de extração indireta por sonda. Foram pesados, em uma balança analítica, cerca de 60 a 70 mg de cada amostra em tubos Falcon de 15 mL. Em seguida, foram adicionados 200 μ L de HCl,

com posterior vedação do frasco. Procedeu-se então com a extração no tempo de 10 minutos. Findo o tempo de sonicação, foi adicionado um volume de 50 μL de uma solução padrão de Cr com concentração de 10 mg L^{-1} , de modo que se obtivesse concentração final, após a diluição para 10 mL, de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr em todas as amostras. Após a ultrassonicação, as amostras foram diluídas para 10 mL e todas centrifugadas a 1000 rpm, durante 10 minutos. Separaram-se os sobrenadantes dos sólidos residuais e procedeu-se com as análises por ICP OES e GF AAS.

4. Resultados e discussão

4.1 Programas de aquecimento para as determinações de As, Cd, Cr, Pb e Se por GF AAS

As temperaturas de pirólise e atomização em meio da amostra em comparação com as mesmas obtidas em soluções analíticas de referência foram avaliadas com o intuito de verificar alterações nas características térmicas dos analitos. As temperaturas de pirólise e atomização escolhidas bem como os modificadores químicos utilizados estão reunidas na Tabela 5.

As temperaturas de pirólise escolhidas para os programas de aquecimento foram aquelas observadas para as soluções extratoras, para que os efeitos da matriz, observados nas pequenas alterações térmicas, fossem considerados. As maiores temperaturas de atomização foram escolhidas para os programas de aquecimento, mesmo para os casos em que se observaram pequenas diferenças entre os diferentes meios estudados.

Para o Cr, observou-se que não ocorreu nenhum tipo de mudança nas temperaturas de pirólise e atomização nos dois meios investigados. Certamente essa semelhança de comportamento se deve ao caráter refratário desse elemento e de algumas de suas espécies (WELZ & SPERLING, 1999). Enquanto que para o As percebeu-se uma pequena alteração na atomização, sendo que esta não foi muito

acentuada, pois se diferencia apenas em 100⁰C da temperatura em solução aquosa de referência. No entanto, essa ligeira mudança de temperatura na etapa de atomização não altera, significativamente, os resultados finais tanto quanto a temperatura de pirólise.

Tabela 5: Temperaturas de pirólise e atomização para As, Cd, Cr, Pb e Se em soluções analíticas de referência e extrato de amostra de fertilizante base orgânica.

Elemento	Tipo de solução	Tipo de modificador	Temp. Pirólise (°C)	Temp. Atomização (°C)
As	Referência	20 µg Pd +	1200	2400
As	Extrato	10 µg Mg	1200	2300
Cd	Referência	5 µg Pd + 3 µg Mg	700	1500
Cd	Extrato		600	1300
Cr	Referência	-	1400	2400
Cr	Extrato		1400	2400
Pb	Referência	5 µg Pd + 3 µg Mg	1100	2100
Pb	Extrato		1000	1800
Se	Referência	20 µg Pd +	1100	2200
Se	Extrato	10 µg Mg	1000	2100

Para Cd, Pb e Se, observou-se que a presença da matriz afetou a pirólise e a atomização desses elementos, particularmente, nas atomizações de Cd e Pb. De um modo geral, pode-se dizer que a presença da matriz na solução extratora alterou as vias de atomização de Cd, Pb e Se, mesmo com uso de modificador químico. É importante salientar que na extração o analito pode ser extraído em formas químicas orgânicas diferentes da iônica (*e.g.* espécies moleculares, com pontos de ebulição diferentes das espécies iônicas), tal como na solução de referência, podendo ter diferentes comportamentos térmicos.

No geral, o modificador químico tem o papel de melhorar a estabilidade térmica do analito, permitindo a obtenção de melhores temperaturas de pirólise, facilitando a remoção de concomitantes indesejáveis durante a atomização (WELZ & SPERLING, 1999). O único elemento em que não houve necessidade do uso de modificador químico foi o Cr, que já é naturalmente bem refratário, suportando elevadas temperaturas de pirólise. Para Cd e Pb utilizou-se o modificador químico 5 µg de Pd + 3 µg de Mg e para As e Se o modificador químico foi 20 µg de Pd + 10 µg de Mg. Após as avaliações das condições de trabalho e análise, estabeleceram-se os programas de aquecimento que foram utilizados nas determinações por GF AAS, para os elementos As, Cd, Cr, Pb e Se, conforme descritos na Tabela 6.

As temperaturas de secagem, tempos de rampas e patamares foram otimizadas com base nos estudos prévios realizados pelo grupo (Carioni, 2014; Menezes, 2013).

A vazão de Ar foi mantida constante sendo interrompida somente nas etapas de auto-zero e atomização.

Tabela 6. Programas de aquecimento para a determinação de As, Cd, Cr, Pb e Se em extratos de fertilizantes base orgânica por GF AAS.

Elemento	Etapa	T (°C)	Rampa (°C/s)	Patamar (s)	Vazão de Ar (L min ⁻¹)
As	Secagem	130	10	30	1
	Pirólise	1200	107	20	1
	Auto-zero	1200	0	0	0
	Atomização	2400	1100	6	0
	Limpeza	2500	1200	6	1
Cd	Secagem	130	10	20	1
	Pirólise	600	94	20	1
	Auto-zero	600	0	0	0
	Atomização	1500	700	5	0
	Limpeza	2500	1200	3	1
Cr	Secagem	130	10	10	1
	Pirólise	1200	107	20	1
	Auto-zero	1200	0	0	0
	Atomização	2400	2400	6	0
	Limpeza	2500	1200	5	1
Pb	Secagem	130	10	15	1
	Pirólise	1000	87	30	1
	Auto-zero	1000	0	0	0
	Atomização	2100	800	6	0
	Limpeza	2500	1200	3	1
Se	Secagem	130	10	15	1
	Pirólise	1000	87	40	1
	Auto-zero	1000	0	0	0
	Atomização	2200	1100	6	0
	Limpeza	2500	1200	5	1

4.2 Extrações assistidas por ultrassom com soluções de ácidos diluídos

A extração assistida por ultrassom é um processo mais simples, rápido e barato de preparo de amostras em comparação com a digestão por micro-ondas. Com isso, pretendeu-se, nessa pesquisa, avaliar sistematicamente se esse procedimento de pré-tratamento de amostras é viável para fertilizantes orgânicos. Para isso, antes de proceder-se com a análise da amostra de fertilizante orgânico,

foram realizados estudos de otimização de tempo, composição da solução extratora e massa de amostra, de modo a se obter a melhor eficiência de extração dos analitos de interesse. Esses estudos preliminares foram feitos com CRM de lodo de esgoto, pois o mesmo tem matriz similar a dos fertilizantes orgânicos. Dessa maneira, as melhores condições foram aquelas em que as recuperações dos analitos mais se aproximaram de sua totalidade, ou seja, 100%.

Nesse trabalho, foram propostos dois tipos de instrumentação usando ultrassom para a realização das extrações multielementares. Foi utilizado o banho ultrassônico, dispositivo que já é largamente recomendado em laboratórios de química e reportado na literatura (BENDICHO, *et al.*, 2012) e sistema com sonda ultrassônica proposto, representados nas Figuras 3 e 4. A extração indireta por sonda ultrassônica, sem ou com o borbulhamento de ar, é alternativa ao uso da sonda diretamente na amostra. O uso de sonda mergulhada na solução da amostra pode gerar contaminação devido ao desgaste do material da sonda em contato diretamente com a solução extratora. Também pode ser considerada como alternativa ao dispositivo comercial denominado cup-horn, que utiliza o mesmo princípio da sonda no banho da solução.

4.2.1 Escolha do tipo e concentração de ácidos na solução extratora

A concentração de ácidos na solução é um dos fatores mais críticos para a extração assistida por ultrassom e é dependente diretamente do tipo de amostra a ser analisada (DE LA CALLE, *et al.*, 2013). Para amostras de fertilizantes orgânicos, esse fator se torna ainda mais crítico por se tratar de amostras de composição mista (frações minerais e orgânicas). Dessa forma, a escolha do extrator pode ser muito

significativa, devendo atuar para os diferentes constituintes da amostra, pois caso não seja considerada pode provocar menor eficiência na extração de alguns analitos. Com isso, foram verificadas as recuperações dos analitos nas condições de 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 e 10 % (v v⁻¹) de HCl ou HNO₃, mantendo fixa a massa de amostra em 30 mg e tempo de sonicação em 10 minutos.

As concentrações dos analitos presentes no CRM, considerando-se aproximadamente 100% de extração (As: 85 µg L⁻¹; Cd: 1400 µg L⁻¹; Cr: 1000 µg L⁻¹; Pb: 900 µg L⁻¹) possibilitaram que as determinações nas soluções (volume final de 10 mL) após as extrações fossem feitas no ICP OES. A grande vantagem do uso dessa técnica é a característica de análise multielementar que essa apresenta. O único elemento, presente no CRM e de interesse da pesquisa, que não se avaliou por ICP OES foi o Se (concentração aproximada em 10 mL de solução extratora considerando-se 100% de extração: 80 µg L⁻¹), pois apresentava a razão sinal ruído muito baixa e sinal de fundo muito alto, o que levou à uma baixa capacidade de detecção na amostra. Sendo assim, realizou-se as determinações de Se no GF AAS. Os resultados das concentrações obtidas após as extrações com os diferentes ácidos e diluições estão mostrados na Figura 7.

Figura 7. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se no CRM de lodo de esgoto, em função da concentração da solução extratora de HNO₃ ou HCl nas seguintes condições: (●) Sem ultrassom; (●) Banho ultrassônico; (●) Indireta por sonda; (●) Indireta por sonda + borbulhamento de ar atmosférico.

Os resultados mostram que os elementos As, Cd e Pb tiveram boas recuperações, possibilitando a escolha de uma concentração de HCl ou HNO_3 adequada para as extrações, o que não foi possível para Cr e Se, já que as suas recuperações não ultrapassaram o valor de 65% de recuperação em todas as condições testadas, sendo que os melhores valores ocorreram para soluções ácidas mais concentradas. Isso indica que esses dois elementos devem estar mais fortemente ligados à matriz, o que torna necessário o uso de métodos de preparo de amostra menos brandos, como por exemplo, o uso de digestão por micro-ondas.

Em relação ao As, com o uso de HNO_3 , as recuperações mais próximas de 100% se deram a partir da concentração de 2% (v v^{-1}) com uso da extração indireta por sonda com borbulhamento de ar. Nessa concentração de ácido, o uso desse dispositivo se sobressaiu ao banho ultrassônico e ao uso da sonda sem borbulhamento. Para a concentração de 5% (v v^{-1}), os resultados mostraram-se semelhantes àqueles obtidos com sonda sem o borbulhamento, em relação ao mesmo tipo de dispositivo com borbulhamento. Já para a concentração de 10% (v v^{-1}) de ácido, pode-se dizer que as boas recuperações para todas as condições são devidas à concentração do ácido, já que na condição sem instrumentação, a recuperação é muito próxima de 100%. Com o uso do HCl na solução extratora, por sua vez, observam-se boas recuperações na a partir de 1% (v v^{-1}) tanto para o banho ultrassônico como para a sonda ultrassônica com borbulhamento de ar. A partir da concentração de 2% (v v^{-1}) de ácido, as extrações começam a ter valores de aproximadamente 100% de recuperação para as três condições instrumentais de extração, estando ligeiramente melhores do que a condição sem uso de ultrassom para as concentrações de 2% (v v^{-1}) e 10% (v v^{-1}) e equivalentes para a concentração de 5% v v^{-1} . Com isso, pode-se dizer que o uso de HCl na solução

extratora foi mais eficiente do que o uso de HNO_3 . No entanto, ambos os ácidos podem ser usados, já que os dois apresentaram bons resultados de recuperação nas condições citadas.

Para o Cd, observaram-se recuperações acima de 80% para todas as condições em que se utilizou algum dispositivo ultrassônico, para ambos os ácidos e em todas as concentrações testadas. Além disso, se observaram recuperações próximas de 80% na condição sem o uso de ultrassom, independentemente da concentração de ácido. Isso indica que esse elemento está fracamente ligado à matriz da amostra ou eventualmente na forma de carbonatos inorgânicos. Portanto, pode-se inferir que a interação do Cd com componentes da matriz do fertilizante orgânico deve-se, principalmente, à adsorção ou precipitação de CdCO_3 . Em meio ácido, além de ocorrer a dissolução de CdCO_3 , a adsorção do Cd é menos favorecida, como mostrado na Figura 8, o que facilitou a extração desse elemento para posterior determinação. Além disso, o uso de HCl deve ter facilitado a extração de Cd devido à formação de complexos com cloretoas, como por exemplo, $[\text{CdCl}_3]^-$ e $[\text{CdCl}_4]^{2-}$ (BRADL, 2004).

Figura 8. Isotermas de adsorção de Cd em dois tipos de solo em função do pH (Retirado de BRADL, 2004).

Quando se utilizou HNO_3 , recuperações próximas a 100% foram obtidas com uso de banho ultrassônico e sonda com sistema de borbulhamento de ar com apenas 0,5% (v v^{-1}) desse ácido. A partir de 1,0% (v v^{-1}), todos os sistemas de extração apresentaram recuperações acima de 90%. Na utilização de HCl , as recuperações com 0,5% (v v^{-1}) foram menores do que em HNO_3 , sendo o banho ultrassônico o melhor dispositivo. Para 1,0% (v v^{-1}), o banho ultrassônico e a sonda com auxílio de borbulhamento de ar apresentaram recuperações próximas de 100%. Por fim, para concentrações maiores que 2,0% (v v^{-1}), todos os tipos de extrações utilizadas apresentaram recuperações próximas a 100%. Para ambos os ácidos, percebe-se que as recuperações de Cd na condição sem ultrassom são muito boas, ou seja, oscilam entre 80% e 100% para as diferentes concentrações de ácido

nítrico. No entanto, essa oscilação nos valores de recuperação não foi crescente com o aumento da concentração de ácido nítrico. Por isso, o uso de algum dispositivo é recomendado para a extração de Cd.

Para o Pb, assim como para o Cd, no geral, a maioria das recuperações foram acima de 80%, mesmo com a adição de HCl. Em meio fortemente ácido, a espécie predominante de chumbo é o Pb (II) (BRADL, 2004). O PbCl₂ é um sólido branco que ocorre naturalmente em minerais, cujo K_{ps} = 1,17 x 10⁻⁵, a 25°C. Em altas concentrações do ânion Cl⁻, o que ocorre nas condições das extrações realizadas, ocorre a formação do complexo de tetracloroplumbato (II), que impede a precipitação do Pb²⁺, conforme a reação a seguir (PATNAIK, 2002):

Com o uso de HNO₃, as recuperações de Pb se aproximam de 100% com o uso do banho ultrassônico e da sonda com borbulhamento na concentração de 1,0% (v v⁻¹). A partir da concentração de 2,0 (v v⁻¹), em todos os dispositivos de ultrassom utilizados, as recuperações foram próximas de 100%. O mesmo pode ser dito quando se usa HCl na solução extratora, com exceção da concentração de 5,0% (v v⁻¹), onde há uma ligeira queda na recuperação com o uso do banho ultrassônico e da sonda com borbulhamento.

A concentração escolhida para as determinações de As, Cd e Pb para os ácidos diluídos (HNO₃ e HCl) foi 2,0% (v v⁻¹), pois, em geral, foi a concentração mínima em que foram observadas recuperações próximas a 100%.

4.2.3. Otimização do tempo de extração

Outra variável importante de ser avaliada é o tempo de extração, que varia de acordo com a matriz da mostra e com a instrumentação utilizada (JÚNIOR, *et al.*, 2007). Portanto, tendo definido como 2% (v v⁻¹) as concentrações de HNO₃ e HCl a serem utilizadas na solução extratora, foram utilizados os seguintes tempos em todas as condições experimentais: 0 (adição de solução extratora seguida por uma homogeneização manual e imediata centrifugação), 5, 10, 20, 30, 40, e 60 minutos. Desejava-se obter a extração total dos analitos para o menor tempo possível, de modo que se tenha a maior frequência analítica nos métodos propostos. As determinações dos elementos As, Cd, Cr e Pb foram feitas por ICP OES e Se por GF AAS, seguindo as condições previamente estabelecidas (Tabelas 2 e 6). Os resultados estão expressos na Figura 9.

Figura 9. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se no CRM em função do tempo de sonicação: (●) Sem ultrassom; (●) Banho ultrassônico; (●) Indireta por sonda; (●) Indireta por sonda + borbulhamento de ar atmosférico

Os resultados apresentados na figura permitem verificar a da extração do analito, em 100%, acima de 10 minutos para As e 5 minutos para Cd e Pb em todas as condições de preparo de amostras realizadas, quando as suspensões foram submetidas ao banho ou sonda ultrassônica. No entanto, para Cr e Se a eficiência de extração não ultrapassou 60%, o que inviabilizou a utilização desses procedimentos para a extração dos elementos. Diante disso, é possível constatar que o efeito do tempo nessa amostra não foi tão pronunciado como para algumas amostras já reportadas na literatura, como solos e sedimentos (SANTOS JÚNIOR, *et al.*, 2007).

Com base nos resultados obtidos para As, nas quais com o uso de HNO_3 , a partir de 10 minutos de sonicação foram obtidas recuperações próximas a 100% nas três condições de extração estudadas, não havendo perdas ou ganhos consideráveis para tempos mais longos. Já em relação ao uso de HCl , também a partir de 10 minutos foram obtidos resultados próximos a 100% de recuperação, no entanto, apenas para ultrassom e sonda com borbulhamento de ar. As recuperações das extrações indiretas com sonda foram próximas a 100%, a partir de 30 minutos, com exceção do tempo de 40 minutos. Observando-se as recuperações de Cd e Pb para essa mesma amostra, percebe-se que também há recuperações menores, porém essas são menos acentuadas, pois a concentração desses elementos no CRM são de ordem de grandeza dez vezes maior. Isso pode ter acontecido devido a algum erro aleatório no preparo dessa amostra, porém, isso não compromete a escolha do tempo, já que no tempo de 60 minutos, as recuperações voltaram a ser próximas de 100%.

Em relação ao Cd, independentemente do ácido utilizado, a partir de 10 minutos a extração foi quantitativa sem o uso de dispositivos ultrassônicos, já que

observa-se que na condição em que não há a utilização dos mesmos, os resultados foram semelhantes em relação aos que os utilizam. Essa mesma observação vale para o Pb, quando se utiliza HCl na solução extratora, com exceção do tempo de 40 minutos na extração indireta por sonda, conforme já comentado anteriormente. No entanto, quando se utiliza HNO_3 na solução extratora para a extração desse elemento, o uso de qualquer condição de preparo de amostra em que se utiliza a extração assistida por ultrassom, com o tempo de 10 minutos, já é suficiente para a extração total de Pb da amostra.

Sendo assim, foi definido como 10 minutos o tempo de extração que foi utilizado nas condições de banho ultrassônico e extração indireta por sonda com borbulhamento de ar atmosférico. A sonda não foi utilizada, pois de acordo com os dados de As, os tempos mais adequados foram a partir de 30 minutos, diminuindo a frequência analítica do método. A principal vantagem do uso de um curto tempo de extração para dispositivos como banho ultrassônico é que, por esse ser um equipamento de menor potência acústica, geralmente ele demanda um maior tempo para a extração eficiente dos analitos. Com isso, para as amostras de interesse desse trabalho, pode-se realizar a extração de As, Cd e Pb com dispositivos relativamente simples, de baixo custo com uma boa frequência analítica.

4.2.4. Escolha da massa de amostra

O uso de massas muito pequenas pode acarretar em baixa precisão entre as medidas, já que quanto menor a massa amostrada, maior a chance de erros em uma análise. Esse fato se deve à falta de representatividade, inerente para massas muito pequenas. Por outro lado, quando se utilizam grandes quantidades de amostra, formam-se aglomerados que impedem a incidência de ondas ultrassônicas em sua porção central, o que diminui a eficiência das extrações (DE LA CALLE, *et al.*, 2009). Diante disso, avaliou-se a eficiência de extração de As, Cd e Pb com 2% ($v\ v^{-1}$) de solução extratora e 10 minutos de tempo de extração para diferentes massas de amostra. Como foram observadas baixas eficiências de extração para Cr e Se, não foi aplicado o estudo de massas, nas condições de ácidos diluídos, para esses elementos. Além disso, foram escolhidas apenas as condições de preparo de amostras usando banho ultrassônico e extração indireta por sonda com borbulhamento de ar, pois foram as condições de melhores eficiências de extração, conforme mostrado nos estudos anteriores. Os resultados obtidos para o estudo de variação da massa da amostra estão expressos na Figura 10.

Figura 10. Recuperações de As, Cd e Pb em função da massa de amostra: (♦) Banho ultrassônico; e (■) Indireta por sonda + borbulhamento de ar atmosférico.

No geral, percebe-se que há uma tendência de perda da eficiência de extração com o uso de maior massa de amostra, mesmo na condição de borbulhamento. Para extração com HNO₃, percebe-se boa eficiência de extração para As até 60 mg em ambas as condições utilizadas, enquanto que para Cd e Pb, pode ser observada perdas acentuadas de eficiência a partir de 30 mg, sendo que o banho ultrassônico teve melhores valores de recuperação. Enquanto isso, com HCl, percebe-se que as extrações permanecem com ótimas recuperações para massas de até 60 mg para todos os analitos, na condição de extração indireta com sonda e borbulhamento de ar e na condição de banho ultrassônico. Por sua vez, o Pb

apresentou boas recuperações até 90 mg de amostra com banho ultrassônico sonda e borbulhamento de ar. No entanto, como a condição de sonda e borbulhamento apresentou melhores resultados para As e resultados equivalentes ao banho ultrassônico para Cd e Pb, a massa de amostra escolhida com base nos resultados desse tipo de preparo de amostra foi de 60 mg.

Os parâmetros otimizados da extração assistida por ultrassom com soluções de ácidos diluídos estão reunidos na Tabela 7.

Tabela 7. Melhores condições utilizadas da extração assistida por ultrassom com soluções de ácidos diluídos

Método	Ácido	Dispositivo Ultrassônico	Tempo (min)	% v v ⁻¹	Massa de Amostra (mg)	Elementos
A	HNO₃	Banho Ultrassônico Sonda + Borbulhamento	10	2,0	30	As, Cd, Pb
B	HCl	Banho Ultrassônico Sonda + Borbulhamento	10	2,0	60	As, Cd, Pb

4.2.5 Avaliação de soluções extratoras compostas por misturas ácidas

A composição da solução extratora, para a amostra de CRM de lodo de esgoto, mostrou ser um parâmetro mais crítico do que o tempo para extração dos elementos de interesse. Com isso, realizou-se um estudo para verificar se a mistura de ácidos melhoraria a extração de Cr, mantendo-se as recuperações ótimas de As, Cd e Pb. A concentração final ácida em solução (HNO₃ + HCl) foi de 2% (v v⁻¹). Os resultados para As, Cd, Cr e Pb estão expressos na Figura 11.

Figura 11. Recuperações de As, Cd, Cr e Pb no CRM de lodo de esgoto em diferentes misturas de ácidos: (●) Sem ultrassom; (●) Banho ultrassônico; (●) Indireta por sonda; (●) Indireta por sonda + borbulhamento de ar atmosférico

Com base nos resultados obtidos, pode-se dizer que as extrações de Cd e Pb não foram influenciadas pelo uso do dispositivo ultrassônico para o preparo de amostras. Para As e Cr, por sua vez, isso não ocorre, sendo que os melhores resultados de extração com o uso do banho ultrassônico, para todas as misturas, e com a sonda com auxílio de borbulhamento de ar, nas misturas HCl 1:1 HNO₃ e HCl 1:3 HNO₃. Os resultados para a misturas ácidas foram equivalentes aos resultados obtidos quando foi utilizado apenas HNO₃ ou HCl na composição da solução extratora. Além disso, a mistura ácida não melhorou a eficiência do Cr, fazendo com que seja necessário o desenvolvimento de outro método para esse elemento.

4.3. Extrações assistidas por ultrassom com adição direta de ácidos concentrados na amostra

Diante da dificuldade de se obter uma boa extração de Cr e Se utilizando-se apenas soluções ácidas diluídas, optou-se por realizar procedimentos buscando a interação dos ácidos concentrados (HNO_3 ou HCl) com a amostra durante a sonicação, baseando-se em trabalho da literatura (TEIXEIRA, *et al.*, 2014). Conforme já comentado anteriormente, as otimizações de parâmetros das extrações assistidas por ultrassom são de extrema importância para se garantir as condições de melhores extrações na maior frequência analítica possível. Com isso, para esses novos procedimentos, também foram realizadas otimizações do volume de ácido adicionado, tempo de extração e massa de amostra. Nesse estudo também foram analisados os elementos As, Cd, e Pb, de modo que fosse investigada a possibilidade da extração simultânea de um maior número possível dos elementos de interesse.

4.3.1. Estudo do volume de ácidos concentrados adicionados diretamente sobre a amostra

Para os procedimentos de adição de ácidos diretamente sobre a amostra, desejou-se verificar a influência de diferentes volumes de ácido adicionados, de acordo com a extração dos analitos de interesse. Além disso, com a diluição do ácido em dois momentos diferentes (antes e após a sonicação). Para esses experimentos, foram utilizadas apenas duas condições para preparo de amostras: banho ultrassônico e extração com o uso indireto da sonda, já que os volumes de

ácidos adicionados são reduzidos, não sendo possível realizar borbulhamento efetivo de ar atmosférico na solução extratora. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 12.

Figura 12. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se de acordo com o volume de ácido adicionado diretamente na amostra: (●) Banho ultrassônico (DPE); (●) Banho ultrassônico (DAE); (●) Indireta por sonda (DPE); e (●) Indireta por sonda (DAE).

De acordo com a Figura 12, pode-se constatar que a mudança de procedimento de extração com ácido concentrado fez com que se obtivessem resultados melhores do que com as extrações com soluções de ácidos diluídos para Cr e Se (somente com HNO_3). Além disso, as boas recuperações foram mantidas para As, Cd e Pb, com destaque para o uso de HCl na solução extratora. No geral, a ordem da diluição do ácido (anterior ou posterior à sonicação) não apresentou grande impacto para as extrações dos elementos, com exceção do Cr. Para esse analito, tanto para extrações onde utilizaram-se HNO_3 ou HCl e qualquer dispositivo ultrassônico, observou-se que as recuperações mais satisfatórias ocorreram quando a extração foi realizada apenas com ácido concentrado, com posterior diluição da solução extratora para análise. A baixa recuperação de Cr em soluções de ácidos diluídos ou com a diluição da solução extratora antes do processo de ultrassonicação foi devido ao fato desse elemento estar ligado fortemente a matriz. De acordo com a literatura (BRADL, 2004) espécies de Cr têm alta afinidade com óxidos de Fe e Mn, óxidos de alumínio e minerais de caolinita, adsorvendo fortemente na superfície desses materiais em meio ácido. Além disso, a extração em meio básico teria problemas, devido à precipitação de hidróxido de cromo entre pHs 8 e 12, conforme mostra a Figura 13.

Figura 13. Distribuição das espécies de Cr (III) em função do pH. Fonte: (Retirado de BRADL, 2004).

Diante disso, a incidência das ondas ultrassônicas em menores volumes de solução extratora aliada a uma maior concentração de ácido em solução, no caso do Cr, propiciou que ocorresse o fenômeno de cavitação com maior eficiência entre a solução extratora e a amostra, promovendo assim uma maior lixiviação do analito, que é comprovada pelas recuperações dos procedimentos de DPE. Em relação ao dispositivo utilizado, tanto o banho ultrassônico como a extração indireta por sonda apresentaram resultados semelhantes para os dois ácidos utilizados, com exceção do volume de 1000 μL para HNO_3 e 100 μL para HCl . Em relação ao ácido utilizado como solução extratora, o HCl apresentou resultados melhores do que o HNO_3 , já que as recuperações para Cr estão, em sua grande maioria, próximas a 100%.

O outro elemento de interesse que teve sua eficiência de extração melhorada foi o Se. No entanto, essa extração só foi possível com HNO_3 , já que houve perdas desse analito quando utilizado o HCl . Esse fato pode ter ocorrido devido à natureza oxidante e redutora desses ácidos em relação ao Se. Enquanto o HNO_3 tem uma característica oxidante, geralmente convertendo Se (IV) em Se (VI), além de oxidar

espécies orgânicas e outros componentes da matriz, o HCl é utilizado como agente redutor, ou seja, reduz o Se (VI) para Se (IV). No entanto, nas condições de extração adotadas, o meio de HCl concentrado é muito redutor. Nesse caso, as perdas de Se (IV), com respostas < LOD podem ser atribuídas à redução para Se elementar e selenito (Se^{2-}), conforme é mostrado no diagrama da Figura 14.

Figura 14. Diagrama de pE e pH para as espécies de Se. Fonte: (Retirado de SHARMA, *et al.*, 2015).

De acordo com a Figura 14, a espécie predominante para condições redutoras, ou seja, que apresentam pE baixo juntamente com pH baixo é o H_2Se . Essa espécie é altamente volátil, tendo ponto de ebulição em $-41,25^\circ\text{C}$ (PATNAIK, 2002), e pode ter sido evaporada na abertura dos frascos, após a sonicação, o que explica a não detecção de Se nas extrações com adição de HCl. Portanto, para extração de Se, o mais recomendado é a utilização do HNO_3 na solução extratora.

Em relação ao dispositivo ultrassônico utilizado e ao momento da diluição da solução extratora, levando-se em conta os desvios padrão, não há diferenças significativas entre as recuperações desse elemento.

De acordo com esse estudo, pode-se dizer que a escolha mais adequada para extração de Cr juntamente com As, Cd e Pb deve ser feita com HCl com adição de um volume de, no mínimo, 200 μL em qualquer dispositivo ultrassônico, já que para um volume menor que esse, as recuperações em sonda têm eficiência de extração abaixo de 80%. Para a extração de Se, por sua vez, o ácido a ser utilizado deve ser o HNO_3 , também em um volume de no mínimo de 200 μL . No entanto, se desejar realizar a extração dos 5 elementos concomitantemente, deve-se utilizar um volume de 1000 μL , já que foi nesse volume que se observaram as maiores recuperações para As, Cd, Cr e Pb. As diluições devem ser feitas apenas depois da extração, pois como comentado, afeta diretamente a eficiência de extração de Cr.

4.3.2. Estudo do tempo na extração com ácidos adicionados diretamente sobre a amostra

O tempo de extração, como já discutido anteriormente, é parâmetro importante para garantir a melhor eficiência de extração no menor tempo possível, a fim de se aumentar a frequência analítica das extrações assistidas por ultrassom. O volume de solução extratora utilizado foi de 200 μL para ambos os ácidos, de modo que se mantivessem todas as variáveis constantes nos experimentos. Os resultados dessa otimização estão apresentados na Figura 15.

Figura 15. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se de acordo com o tempo de extração com ácido adicionado diretamente na amostra: (●) Banho ultrassônico (DPE); (●) Banho ultrassônico (DAE); (●) Indireta por sonda (DPE); e (●) Indireta por sonda (DAE).

De acordo com os resultados apresentados na Figura 15, percebe-se novamente que para os elementos As, Cd e Pb o efeito do tempo não é muito pronunciado, sendo que, para esse tipo de procedimento de extração 5 minutos foram suficientes para que o processo ocorresse quantitativamente, pois todos os resultados dos tempos superiores a esse são bastante semelhantes entre si. Sendo assim, para esses elementos, pode-se afirmar que o efeito do volume de ácido adicionado é mais importante do que o tempo de extração. Para Cr, por sua vez, observa-se uma significativa melhora na extração de 5 para 10 minutos com o uso de HCl e banho ultrassônico, enquanto que para Se, como já citado anteriormente, o uso desse ácido é inviabilizado devido a provável perda por volatilização. As recuperações mais satisfatórias se deram no tempo de 20 minutos com o uso de 200 μL HNO_3 concentrado como extrator.

4.3.3. Estudo da massa de amostra na condição de extração com ácidos concentrados

Para avaliar a influência da massa de amostra mantiveram-se constantes 200 μL dos HNO_3 ou HCl concentrados e o tempo de extração de 10 minutos. A diluição foi feita após a sonicação da amostra com o ácido concentrado utilizado como extrator. Os resultados estão apresentados na Figura 16.

Figura 16. Recuperações de As, Cd, Cr, Pb e Se de acordo com a massa de amostra: (•) Banho ultrassônico; e (•) Indireta por sonda.

De acordo com a Figura 16 verifica-se que, em geral, há uma queda dos valores de recuperação em ambos os ácidos. Na utilização de HNO_3 na solução extratora, para As e Cr, os dois dispositivos ultrassônicos mostraram desempenhos equivalentes até massa de 60 mg, e para massas acima dessa, a sonda sobressaiu em relação ao banho ultrassônico. Para Cd e Pb, por sua vez, o banho ultrassônico possui melhor desempenho para extrações de 30 mg, e de 15 mg quando utilizou-se a sonda. Para massas a partir de 60 mg, os dois dispositivos ultrassônicos têm eficiências parecidas, com recuperações mais baixas do que em massas menores. Em relação ao Se, ambos os dispositivos mostraram recuperações equivalentes. Como esse elemento só pode ser extraído com HNO_3 e os outros elementos possuem recuperação acima de 90% para massas de até 30 mg, a escolha do melhor intervalo de massas deve levar em consideração a extração de Se. Nesse caso, foi escolhida a massa de 30 mg, pois acima desses valores os resultados foram abaixo de 80% de recuperação. Na utilização de HCl para extração, percebeu-se que para As, Cd e Pb o desempenho do banho ultrassônico foi melhor do que o da sonda, porém, ambos apresentaram resultados com recuperações próximas a 100%, possibilitando o uso de qualquer um dos dois dispositivos ultrassônicos para esse tipo de extração. As massas mais adequadas a serem utilizadas para extração devem ser de até 60 mg, já que as quedas mais acentuadas na recuperação para todos os elementos ocorreram entre 60 e 120 mg.

Os melhores parâmetros da extração assistida por ultrassom com adição direta de ácidos concentrados estão reunidos na Tabela 8:

Tabela 8. Parâmetros otimizados da extração assistida por ultrassom com adição direta de ácidos

Método	Ácido	Dispositivo Ultrassônico	Tempo (min)	Volume (μL)	Massa de Amostra (mg)	Elementos
C	HNO ₃	Banho Ultrassônico Indireto por Sonda	20	1000	30	As, Cd, Cr, Pb e Se
D	HCl	Banho Ultrassônico Indireto por Sonda	10	200	60	As, Cd, Cr e Pb

4.4. Parâmetros analíticos para as determinações de As, Cd, Cr, Pb e Se por ICP OES e GF AAS com extração ultrassônica

Para a proposição de um método analítico é necessário avaliar os principais parâmetros LOD, LOQ, precisão e exatidão e verificar se estão de acordo com a análise pretendida. Os LODs e LOQs, para cada método desenvolvido, podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9. Valores de LOD e LOQ para As, Cd, Cr, Pb (ICP OES) e Se (GF AAS).

Elemento	LOD (mg kg ⁻¹)	LOQ (mg kg ⁻¹)
As	1,8 ^A / 1,1 ^C / 1,2 ^{B,D}	18 ^A / 11 ^C / 12 ^{B,D}
Cd	0,002 ^{A,B,D}	0,020 ^{A,B,C,D}
Cr	0,27 ^C / 0,14 ^D	2,7 ^C / 1,4 ^D
Pb	9,5 ^A / 3,5 ^C / 8,8 ^{B,D}	95 ^A / 35 ^C / 88 ^{B,D}
Se	4,05 ^C	15,5 ^C

^AHNO₃ Diluído 2% (v v⁻¹); ^BHCl Diluído 2% (v v⁻¹);

^CHNO₃ Adição Direta 10% (v v⁻¹); ^DHCl Adição direta 2% (v v⁻¹)

Para os cálculos dos LOQs e LODs, foram utilizadas as massas escolhidas para cada método no estudo de otimização de massas. Todos os limites de quantificação apresentados na Tabela 9 estão abaixo dos teores exigidos pela normativa brasileira (Tabela 1). Portanto, os métodos são adequados em relação ao atendimento das normas brasileiras quanto à determinação de possíveis contaminações pelos elementos de interesse da pesquisa.

Além disso, foram avaliadas a exatidão e a precisão de cada método com a amostra de CRM de lodo de esgoto. Os valores estão contidos na Tabela 10.

Tabela 10. Determinação de As, Cd, Cr, Pb (ICP OES) e Se (GF AAS) para cada método de extração assistida por ultrassom desenvolvido.

Elemento	Valor Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Método	Dispositivo*	Valor Encontrado	Rec. (%)	RSD** (%)
As	$27,5 \pm 2,76$	A	US	$26,2 \pm 0,8$	95	3,09
			S+B	$26,2 \pm 0,5$	95	1,87
		B	US	$22,4 \pm 0,5$	82	1,75
			S+B	$23,3 \pm 1,9$	85	6,99
			US	$24,7 \pm 1,7$	90	5,69
		C	S	$25,4 \pm 0,9$	93	3,42
			US	$25,8 \pm 0,7$	94	2,14
		D	S	$24,9 \pm 1,3$	91	4,84
			S			
Cd	487 ± 18	A	US	489 ± 35	100	7,50
			S+B	516 ± 17	106	3,49
		B	US	479 ± 2	98	0,47
			S+B	468 ± 5	96	1,02
		C	US	413 ± 13	85	2,79
			S	411 ± 19	84	3,92
		D	US	519 ± 15	106	3,12
			S	514 ± 21	106	4,32
			S			
Cr	345 ± 15	A	US	288 ± 11	84	3,08
			S	277 ± 3	80	0,82
		B	US	344 ± 22	100	6,35
			S	332 ± 11	97	3,17
			S			
Pb	300 ± 12	A	US	298 ± 10	99	3,27
			S+B	313 ± 6	104	1,98
		B	US	312 ± 5	104	1,77
			S+B	297 ± 9	100	2,97
		C	US	267 ± 20	89	6,63
			S+B	256 ± 17	85	5,83
		D	US	340 ± 13	113	4,27
			S+B	331 ± 11	110	3,84
			S			
Se	$25,4 \pm 3,27$	C	US	$20,4 \pm 0,8$	80	3,29
			S	$21,4 \pm 1,2$	84	4,63

*(US) Banho Ultrassônico; (S+B) Extração Indireta por Sonda com Borbulhamento; (S) Indireta por Sonda

** n=3

A exatidão das medidas foi avaliada determinando-se a porcentagem de recuperação de todos os elementos em relação aos teores presentes no CRM. Todas as recuperações dos métodos resumidos nas Tabelas 7 e 8 estão entre 80% e 120%, consideradas adequadas. Portanto, pode-se considerar que os métodos são satisfatórios e apresentam extrações quantitativas de todos os analitos investigados. Além disso, os Desvios Padrões Relativos (RSD) das medidas variaram de 0,47% a 7,5%, sendo que no geral, observa-se que o dispositivo ultrassônico proposto (sonda ou sonda + borbulhamento de ar) possui RSD similar ao obtido no banho ultrassônico. Os baixos RSDs conferem boa precisão para os métodos propostos.

4.5. Determinação de As, Cd, Cr, Pb e Se nas amostras de fertilizantes orgânicos, substratos de solo e condicionadores

Para a determinação de As, Cd, Cr, Pb e Se no substrato, condicionador de solo e fertilizante orgânico, foi necessária uma etapa de pré-tratamento devido a heterogeneidade das amostras recebidas. Nas Figuras 17 e 18 é possível observar as diferenças de aspectos antes e após a secagem seguida de moagem.

Figura 17. Amostras antes da secagem e moagem: (A) Condicionador de Solo 1 (Lote: 260913-3); (B) Condicionador de Solo 2 (Lote: 2505); (C) Substrato de solo (Lote: 270913-1); e (D) Fertilizante (Lote: 0409).

Figura 18. Amostras após a secagem em liofilizador seguida de moagem em moinho almofariz e pisitilo: (A) Condicionador de Solo 1 (Lote: 260913-3); (B) Condicionador de Solo 2 (Lote: 2505); (C) Substrato de solo (Lote: 270913-1); e Fertilizante (Lote: 0409).

Para a determinação dos elementos optou-se por utilizar os métodos de adição direta de ácido, já que ficaram comprovadas as boas eficiências de extração, para todos os elementos, com base nos estudos utilizando o CRM. O método com adição de HCl concentrado foi utilizado para a determinação de As, Cd, Cr e Pb e o método com adição de HNO₃ concentrado para a determinação de Se. Para comparação, foram feitas análises das amostras submetidas à decomposição assistida por micro-ondas, com determinações por ICP OES e GF AAS, por se tratar

de um método de decomposição de amostras largamente difundido e conhecido pela sua boa eficiência (AGAZZI & PIROLLA, 2000). Os resultados dos teores de cada elemento, juntamente com os testes de adição de analito para Cr estão expressos na Tabela 11. A adição e recuperação foi aplicada somente ao Cr uma vez que as concentrações encontradas para As, Cd, Pb e Se ficaram abaixo do LOQ.

Tabela 11. Determinação de As, Cd, Cr, Pb (ICP OES) e Se (GF AAS) em digestão por micro-ondas e extração indireta por sonda sem borbulhamento de ar.

	Digestão por Micro-ondas* (mg Kg ⁻¹)	Extração por Ultrassom (mg Kg ⁻¹)	Recuperação** (%)
Condicionador 1			
As	< LOQ ¹	< LOQ	-
Cd	< LOQ ²	< LOQ	-
Cr	62,4 ± 1,1 ³	14,9 ± 1,1 ^a 15,9 ± 0,7 ^b	98 ^a 103 ^b
Pb	58,1 ± 0,7 ⁴	< LOQ	-
Se	< LOQ	< LOQ	-
Condicionador 2			
As	< LOQ ¹	< LOQ	-
Cd	< LOQ ²	< LOQ	-
Cr	43,3 ± 3,7 ³	12,9 ± 0,2 ^a 13,2 ± 2,7 ^b	82 ^a 76 ^b
Pb	35,7 ± 0,9 ⁴	< LOQ	-
Se	< LOQ	< LOQ	-
Substrato			
As	< LOQ ¹	< LOQ	-
Cd	< LOQ ²	< LOQ	-
Cr	283 ± 21 ³	20,8 ± 0,7 ^a 19,5 ± 1,4 ^b	131 ^a 122 ^b
Pb	37,6 ± 2,0 ⁴	< LOQ	-
Se	< LOQ	< LOQ	-
Fertilizante			
As	< LOQ ¹	< LOQ	-
Cd	< LOQ ²	< LOQ	-
Cr	67,2 ± 1,7 ³	31,2 ± 1,0 ^a 29,2 ± 0,9 ^b	134 ^a 160 ^b
Pb	33,6 ± 1,5 ⁴	< LOQ	-
Se	< LOQ	< LOQ	-

(a): ICP OES; (b): GF AAS

* LOQs do método de digestão por micro-ondas (mg kg⁻¹): (1): 0,001; (2): 0,006; (3): 0,333; (4): 0,066.

** Recuperação da adição de 50 µg L⁻¹ de Cr³⁺

De acordo com os valores da tabela, pode-se constatar que, em ambos os métodos de preparo de amostra, não foram detectados os elementos As, Cd e Se. O Pb foi determinado nas soluções de digestão por micro-ondas, sendo que todas as concentrações encontradas estão abaixo do limite máximo exigido pela normativa. No entanto, para as determinações com uso de ultrassonicação no preparo das amostras, as concentrações de Pb estão abaixo do limite de quantificação. O LOQ (em mg kg^{-1}) para o método de extração indireta por sonda é consideravelmente mais alto do que aquele observado para o método de digestão em micro-ondas devido à menor massa de amostra utilizada.

Ao contrário dos outros elementos, foi possível determinar Cr nas amostras por ambos os métodos de preparo de amostra. No entanto, os valores encontrados pelo método de extração foram muito abaixo daqueles encontrados nas soluções digeridas e determinadas por ICP OES. Com isso, realizou-se as análises de Cr no GF AAS, para verificar se as baixas concentrações encontradas nas soluções das amostras preparadas pelo método de extração por ultrassonicação estavam sendo devidamente determinados por ICP OES. Além disso, para identificar possíveis interferências de matriz nas determinações, tanto no GF AAS como no ICP OES, provocadas por espécies contidas nos extratos, foi utilizada a estratégia de adição de Cr^{3+} nas soluções das amostras após a extração, de modo a verificar os valores das recuperações. Os resultados obtidos por GF AAS foram concordantes com os obtidos por ICP OES. É importante considerar que todas as otimizações dos programas de aquecimento do GF AAS foram feitas também com soluções de extratos do CRM que, pelos resultados observados (Tabela 10), demonstraram boas concordâncias.

Em relação aos valores das recuperações, cujas variações consideradas ótimas, nessa pesquisa, estariam entre 80% e 120%, identificou-se que em 3 amostras elas estavam fora dessa faixa: Condicionador 2 (para GF AAS), Substrato e Fertilizante. Contudo, mesmo fora do esperado, não são valores muito elevados ou muito baixos. Com esses resultados não é possível obter uma conclusão definitiva da existência de possíveis interferências provocadas por componentes da matriz presentes nos extratos, já que nas extrações assistidas por ultrassom não há a solubilização completa da amostra com a destruição dos componentes da matriz, como na digestão por micro-ondas. No entanto, se fossem esperadas interferências nos resultados de Cr, elas deveriam ser negativas, uma vez que as concentrações nas soluções dos extratos foram menores do que aquelas obtidas pelo método de digestão. Nesse caso, comparando-se os resultados obtidos pelos métodos de digestão e extração, pode-se deduzir que a extração de Cr não ocorreu eficientemente para todas as amostras analisadas, necessitando de otimizações e maiores estudos em cada caso. Como as concentrações para os demais elementos foram abaixo do LOQ, não foi possível fazer as mesmas deduções, mas, muito provavelmente o método de extração deve ser mais bem investigado também para o Pb.

5. Conclusão

Ficou demonstrado que a extração assistida por ultrassom é um método versátil, de baixo custo e de fácil operação, podendo ser utilizado tanto o banho convencional como a sonda com a adaptação proposta. No entanto, o dispositivo ultrassônico proposto nesse trabalho (extração indireta por sonda com e sem borbulamento de ar atmosférico), montado a partir de dispositivos muito simples, como um frasco com tampa furada e bomba de aquário para o borbulamento de ar, mostraram resultados acima do esperado e em alguns casos com menores desvios padrão do que aqueles obtidos por banho ultrassônico. A vantagem da extração indireta por sonda em relação ao banho está associada à homogeneidade da distribuição das ondas ultrassônicas, permitindo o tratamento de até 4 amostras, no sistema proposto, de uma mesma forma. Ao contrário do banho ultrassônico que exige a localização dos pontos de máxima intensidade e que podem sofrer alterações ao longo do tempo de uso.

Os métodos de ICP OES e GF AAS se mostraram efetivos nas determinações dos elementos de interesse, com limites dentro dos valores previstos na Instrução Normativa SDA nº 27, 05 de junho de 2006, podendo ser indicados para essas análises. No geral, os métodos de extração assistida por ultrassom com ácidos diluídos, tanto HNO_3 como HCl , mostraram-se eficientes para as determinações de As, Cd e Pb em CRM de lodo de esgoto. Para as determinações de elementos mais fortemente ligados a matriz, no caso de Cr e Se, também em lodo de esgoto, recomenda-se extrações com uso de HCl concentrado e HNO_3 concentrado, respectivamente, com posterior diluição dos extratos.

A comparação dos resultados obtidos para as determinações de Cr nas amostras de condicionadores, substrato e fertilizante base orgânica, com pré-tratamento por extrações assistidas por ultrassom e digestão por micro-ondas, revelou forte discrepância, indicando que a extração pelo método proposto não foi eficiente, apesar dos bons resultados para o CRM, sinalizando a necessidade de otimização das condições para cada amostra. As menores concentrações obtidas para o Cr, pelo método de extração, nas amostras de interesse, mostram que não basta ajustar o método para o material de referência, mesmo que a composição seja similar, para a validação de um método é necessário explorar o comportamento em todas as amostras frente a todas as etapas propostas.

6. Referências Bibliográficas

AGAZZI, A. & PIROLLA, C., 2000. Fundamentals, Methods and Future Trends of Environmental Microwave Sample Preparation. **Microchemical Journal**, Volume 67, pp. 337 - 441.

ALEXANDRATOS, N. & BRUINSMA, J., 2012. **World Agriculture Towards 2030/2050: the 2012 review**, Rome: FAO.

ALLUÉ, J. et al., 2014. Fractionation of Chromium in Tannery Sludge-Amended Soil and its Availability to Fenugreek Plants. **Journal of Soils and Sediments**, 14(4), pp. 697 - 702.

ANTUNES, R. et al., 2008. Avaliação de Características Ecotoxicológicas e Químicas de Fertilizantes Orgânicos para Aplicação Agrícola. **Holos Environment**, 8(2).

ASHLEY, K., ANDREWS, R. N., CAVAZOSA, L. & DEMANGEB, M., 2001. Ultrasonic Extraction as a Sample Preparation Technique for Elemental Analysis by Atomic Spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 16, pp. 1147-1153.

BENDICHO, C. et al., 2012. Ultrasound-Assisted Pretreatment of Solid Samples in the Context of Green Analytical Chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, Volume 31, pp. 50-60.

BHATIA, P. et al., 2013. Selenium Bioaccessibility and Speciation in Biofortified Pleurotus Mushrooms Grown on Selenium-Rich Agricultural Residues. **Food Chemistry**, Volume 140, pp. 225 - 230.

BRADL, H., 2004. Adsorption of Heavy Metal Ions on Soils and Soils Constituents. **Journal of Colloid and Interface Science**, Volume 277, pp. 1-18.

CAPELO, J., MADURO, C. & VILHENA, C., 2005. Discussion of Parameters Associated With the Ultrasonic Solid–Liquid Extraction for Elemental Analysis (Total Content) by ETAAS. An Overview. **Ultrasonics Sonochemistry**, Volume 12, pp. 225 - 232.

CARIONI, V., 2014. *Produção de Candidato a CRM de Tecido de Peixe para Determinação de AS, Cd e Cu e Espécies de As.* Santo André: **Tese de Doutorado - Centro de Ciências Naturais e Humanas - UFABC.**

CORREIA, P. & OLIVEIRA, P., 2005. Cobalt as Internal Standard for Arsenic and Selenium Determination in Urine by Simultaneous Atomic Absorption Spectrometry. **Talanta**, Julho, Volume 67, pp. 46-53.

COSTA, B., COELHO, N. & COELHO, L., 2015. Determination of Arsenic Species in Rice Samples Using CPE and ETAAS. **Food Chemistry**, Volume 178, pp. 89 - 95.

CUBADDA, F. et al., 2010. Arsenic Contamination of the Environment-Food Chain: A Survey on Wheat as a Test Plant To Investigate Phytoavailable Arsenic in Italian Agricultural Soils and as a Source of Inorganic Arsenic in the Diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Volume 58, pp. 10176 - 10183.

CUBADDA, F. et al., 2003. Chromium Determination in Foods by Quadrupole ICP-MS with Ultrasonic Nebulization. **Food Chemistry**, Volume 81, pp. 463 - 468.

DE LA CALLE, I., CABALEIRO, N., LAVILLA, I. & BENDICHO, C., 2009. Analytical Evaluation of a Cup-horn Sonoreactor Used for a Ultrasound-Assisted Extraction of Trace Metals from Troublesome Matrices. **Spectrochimica Acta Part B**, Volume 64, pp. 874-883.

DE LA CALLE, I., N., C., LAVILLA, I. & BENDICHO, C., 2013. Ultrasound-Assisted Single Extraction Testes for Rapid Assessment of Metal Extractability from Soils by TXRF. **Journal of Hazardous Materials**, Volume 260, pp. 202 - 209.

DOBROWOLSKI, R. & MIERZWA, J., 1993. Determination of Trace Elements in Plant Materials by Slurry Sampling GF AAS - Some Analytical Problems. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 346, pp. 1058-1061.

FRENTIU, T. et al., 2015. Application of Low-Cost Electrothermal Vaporization Capacitively Coupled Plasma Microtorch Optical Emission Spectrometry for Simultaneous Determination of Cd and Pb in Environmental Samples. **Microchemical Journal**, Volume 121, pp. 192 - 198.

GONZÁLEZ, A., DÍAZ, M. & LOBO, M., 2014. Response of Two Barley Cultivars to Increasing Concentrations of Cadmium or Chromium in Soil During the Growing period. **Biological Trace Element Research**, 163(1 - 2), pp. 235 - 243.

HAN, F., SU, Y., SRIDHAR, B. & MONTS, D., 2004. Distribution, Transformation and Bioavailability of Trivalent and Hexavalent Chromium in Contaminated Soil. **Plant and Soil**, Volume 265, pp. 243 - 252.

HAZER, O., KARTAL, S. & TOKAHOGLU, S., 2009. Atomic Absorption Spectrometric Determination of Cd(II), Mn(II), Ni(II), Pb(II) and Zn(II) Ions in Water, Fertilizer and Tea Samples after Preconcentration on Amberlite XAD-1180 Resin Loaded with I-(2-Pyridylazo)-2-naphthol. **Journal of Analytical Chemistry**, Volume 64, pp. 609 - 614.

HUANG, Z. et al., 2012. Lead Contamination and Its Potential Sources in Vegetables and Soils of Fujian, China. **Environmental Geochemistry and Health**, 34(1), pp. 55 - 65.

HUGHES, M. et al., 2011. Arsenic Exposure and Toxicology: A Historical Perspective. **Toxicological Sciences**, 123(2), pp. 305 - 332.

ISHERWOOD, K., 2000. Mineral Fertilizer Use and the Environment. Paris: **International Fertilizer Association**. Revised Edition.

JUNIOR, C. H. A., BOARETTO, A. E., MURAOKA, T. & KIEHL, J., 2005. Uso Agrícola de Resíduos Orgânicos Potencialmente Poluentes: Propriedades Químicas do Solo e Produção Vegetal. **Tópicos em Ciência do Solo**, Volume 4, pp. 391-470.

JUNIOR, D., 2005. *Avaliação da Extração Ultra-Sônica para Determinação de Elementos em Materiais de Interesse Agronômico e Ambiental por ICP OES e GF AAS*. Piracicaba: **CENA - USP**.

JÚNIOR, D., KRUG, F., PEREIRA, M. & KORN, M., 2007. Currents on Ultrasound-Assisted Extraction for Sample Preparation and Spectroscopic Analytes. **Applied Spectroscopy Reviews**, Volume 41, pp. 305 - 321.

KRUG, F., 2008. *Métodos de Preparo de Amostras*. 1 ed. Piracicaba: s.n.

KUBRAKOVA, I. V. & S., T. E., 2013. Microwave Sample Preparation for Geochemical and Ecological Studies. **Journal of Analytical Chemistry**, 68(6), pp. 476- 476.

LAPIDO-LOREIRO, F., MELAMED, R. & NETO, J. F., 2008. *Fertilizantes – Agroindústria e Sustentabilidade*. Rio de Janeiro: **CETEM/MCT**.

LEEMAKERS, M. et al., 2006. Toxic Arsenic Compounds in Environmental Samples: Speciation and Validation. **Trends in Analytical Chemistry**, Volume 25, pp. 1 - 10.

LIMA, A. et al., 2015. Fast Ultrasound-Assisted Treatment of Inorganic Fertilizers for Mercury Determination by Atomic Absorption Spectrometry and Microwave-Induced Plasma Spectrometry With the Aid of the Cold-Vapor Technique. **Microchemical Journal**, Volume 118, pp. 40 - 44.

LIMA, A., RICHTER, E. & MUÑOZ, R., 2011. Alternative Analytical Method for Metal Determination in Inorganic Fertilizers Based on Ultrasound-Assisted Extraction. **Journal of Brazilian Chemical Society**, 22(8), pp. 1519 - 1524.

LOPEZ, S. & GUILHERME, L., 2007. *Fertilidade do Solo e Produtividade Agrícola*. Viçosa: **SBCS**.

MANNING, T. J. & GROW, W. R., 1997. Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry. **The Chemical Educator**, Volume 2, pp. 1 -19.

MAPA, 2006. Instrução normativa SDA nº 27. **D.O.U.**, 09 Junho, pp. 15-16.

MAPA, 2012. *Principais Produtos e Mercados: edição 2012*, Brasília: **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Relações Internacionais do Agronegócio**.

MAPA, 2013. *Projeções do Agronegócio Brasil 2012/12 a 2022/23.*, Brasília: **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Assessoria de Gestão Estratégica**.

MASON, T. J. & LORIMER, J. P., 2002. Power Ultrasound Uses and Applications. **Practical Sonochemistry**. Chichester: Ellis Horwood Publishers.

MCLAUGHLIN, M., PARKER, D. & CLARKE, J., 1999. **Field Crops Research**. Metals and micronutrients: food safety issues, Volume 60, pp. 143 - 163.

MÉNDEZ, H., ALAVA, F., LAVILLA, I. & BENDICHO, C., 2002. Ultrasonic Extraction Combined with Fast Furnace Analysis as an Improved Methodology for Total Selenium Determination in Seafood by Electrothermal-Atomic Absorption Spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, May, pp. 217-222.

MENEZES, D., 2013. *Determinação Direta de Elementos Potencialmente Tóxicos em Arroz por GF AAS: Desenvolvimento de Métodos e Aplicações..* São Paulo: **Dissertação de Mestrado: IQ - USP.**

MERMET, J. & POUSSEL, E., 1995. ICP Emission Spectrometers: 1995 Analytical Figures of Merit. **Applied Spectroscopy**, 49(10), pp. 12 - 18.

MONTASER, A., 1998. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry.* New York: **Wiley-VCH.**

NAOZUKA, J. & OLIVEIRA, P., 2006. Minimization of Sample Pretreatment for Al, Cu and Fe Determination in Coconut Water by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of Brazilian Chemical Society**, 17(3), pp. 521-526.

NAOZUKA, J., VIEIRA, E. C., NASCIMENTO, A. N. & OLIVEIRA, P. V., 2011. Elemental Analysis of Nuts and Seeds by Axially Viewed ICP OES. **Food Chemistry**, Volume 124, pp. 1667 - 1672.

NOGUEIROL, R., MELO, W., BERTONCINI, E. & ALLEONI, L., 2013. Concentrations of Cu, Fe, Mn and Zn in Tropical Soils Amended with Sewage Sludge and Composted Sewage Sludge. **Environmental Monitoring Assessment**, Volume 185, pp. 2929 - 2938.

NOMURA, C., SILVA, C. & OLIVEIRA, P., 2008. Análise Direta de Sólidos por Espectrometria Atômica com Atomização em Forno de Grafite: Uma Revisão. **Química Nova**, 31(1), pp. 104-113.

OLIVEIRA, F. & MATTIAZZO, M., 2001. Metais Pesados em Latossolo Tratado com Lodo de Esgoto e em Plantas de Cana-de-Açúcar. **Scientia Agricola**, 58(3), pp. 581-593.

OLYMPIO, K. et al., 2010. Surface Dental Enamel Lead Levels and Antisocial Behavior in Brazilian Adolescents. **Neurotoxicology and Teratology**, 32(2), pp. 273 - 279.

OMS, 2002. *WHO Global strategy for Food Safety : Safer Food for Better Health.*, Geneva, Switzerland: **World Health Organization**.

PATNAIK, P., 2002. Handbook of Inorganic Chemicals. 1 ed. New York: **McGraw - Hill**.

PIRES, A. & MATIAZZO, M., 2007. Cinética de Solubilização de Metais Pesados por Ácidos Orgânicos em Solos Tratados com Lodo de Esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Volume 31, pp. 143 - 151.

RECHIGL, J. & MACKINNON, H., 1997. *Agricultural Uses of By-Products and Wastes*. **ACS Symposium Series**.

REZENDE, H. & COELHO, N., 2014. A New Analytical Strategy for Single Extraction of Metals in Phosphate Fertilizers. **Analytical Methods**, Volume 6, pp. 9705 - 9711.

REZENDE, H. & COELHO, N., 2014. Determination of Total Arsenic and Arsenic (III) in Phosphate Fertilizers By HG AAS After Ultrasound-Assisted Extraction Based on Control Acid Media. **Journal of AOAC International**, 97(3), pp. 736 - 741.

RODELLA, A., 2005. Legislação Sobre Teores de Contaminantes em Fertilizantes - Estudo de um Caso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Volume 29, pp. 791-801.

SANTOS, H. & CAPELO, J., 2007. Trends in Ultrasonic-Based Equipment for Analytical Sample Treatment. **Talanta**, Volume 73, pp. 195 - 802.

SANTOS, S., UNGUREANU, G., BOAVENTURA, R. & BOTELHO, C., 2015. Selenium Contaminated Waters: An Overview of Analytical Methods, Treatment Options and Recent Advances in Sorption Methods. **Science of Total Environment**, Volume 521 - 522, pp. 246 - 260.

SHARMA, V. et al., 2015. Biogeochemistry of Selenium. A Review. **Environmental Chemistry Letters**, Volume 13, pp. 49 - 58.

SILVA, Y., NASCIMENTO, C., BIONDI, C. & PRESTON, W., 2014. Comparison of Digestion methods to Determine Heavy Metals in Fertilizers. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Volume 38, pp. 650 - 655.

SINGH, R. et al., 2015. Arsenic Contamination, Consequences And Remediation Techniques: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Volume 112, pp. 247 - 270.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J. & CROUCH, S. R., 2007. *Fundamentos de Química Analítica*. 8 ed. São Paulo: **Thomson Learning**.

SOUZA, S. et al., 2014. Simultaneous Determination of Macronutrients, Micronutrients and Trace Elements in Mineral Fertilizers by ICP OES. **Spectrochimica Acta Part B**, Volume 96, pp. 1 - 7 .

SUN, B., MACKA, M. & HADDAD, P., 2004. Speciation of Arsenic and Selenium by Capillary Electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Volume 1039, pp. 201 - 208.

TEIXEIRA, L., VIEIRA, H., WINDMOLLER, C. & NASCENTES, C., 2014. Full Determination of Trace Elements in Organic Fertilizers Using a Cup-Horn Reactor for Ultrasound-Assisted Extraction and Fast Sequential FAAS. **Talanta**, Volume 119, pp. 232 - 239.

TSUTIYA, M. T., 1999. *Metais Pesados: O Principal Fator Limitante Para o Uso Agrícola de Biossólidos das Estações de Tratamento de Esgoto..* Rio de Janeiro, **20° Congresso brasileiro de engenharia sanitária e ambiental.**

WANG, Q. et al., 2014. The Influence of Long-Term Fertilization on Cadmium (Cd) Accumulation in Soil and Its Uptake by Crops. **Environmental Science and Pollution Research International** , 21(17), pp. 10277 - 10385.

WELZ, B. & SPERLING, M., 1999. *Atomic Absortion Spectrometry.* 3 ed. Uhldingen: **Wiley-VCH.**

ZHAO, D. et al., 2015. Arsenic Extraction and Speciation in Plants: Method Comparison and Development. **Science of the Total Environment**, Volume 523, pp. 138 - 145.

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Diego Pereira Leite

Local e data de nascimento: São Paulo, 07 de Novembro de 1990.

EDUCAÇÃO

- Escola Técnica Estadual de São Paulo, São Paulo - SP, 2007.
- Universidade de São Paulo (USP), São Paulo - SP, 2013. Graduação (Bacharel em Química Ambiental)

OCUPAÇÃO

- Bolsista de Mestrado, CNPq, processo: 130328/2014-6, vigência: de 01/02/2014 à 31/08/2015.

PARTICIPAÇÕES EM EVENTOS

- I Workshop sobre Laser em Química Analítica. 2013. (Outra).

ATIVIDADES ACADÊMICAS

- Monitor da disciplina QFL 1200 (Química Analítica), sob supervisão da Prof. Dr. Lúcio Angnes e do Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira. Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) – IQ/USP. 2º semestre de 2014.
- Monitor da disciplina QFL 4220 (Química Analítica II), sob supervisão do Profa. Dra. Cassiana Seimi Nomura, Prof. Dr. *Thiago Regis Longo* Cesar da Paixão e Profa. Dra. Pérola de Castro Vasconcelos. Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) – IQ/USP. 1º semestre de 2015.