UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

TATIANA VALÉRIA FURQUIM

**Estudo de métodos para determinações de As, Cd,
Cr, Hg e Pb em fertilizantes minerais por MIP OES**

Versão corrigida da dissertação defendida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

05/07/2018

TATIANA VALÉRIA FURQUIM

**Estudo de métodos para determinações de As, Cd,
Cr, Hg e Pb em fertilizantes minerais por MIP 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

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

F983e Furquim, Tatiana Valéria
Estudo de métodos para determinações de As, Cd, Cr, Hg e Pb em fertilizantes minerais por MIP OES / Tatiana Valéria Furquim. - São Paulo, 2018.
113 p.

Mestrado Profissional - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.

Orientador: Oliveira, Pedro Vitoriano

1. Fertilizante mineral. 2. Geração química de hidreto e vapor. 3. MIP OES. I. T. II. Oliveira, Pedro Vitoriano, orientador.

*Aos meus pais, Neuza e João,
por estarem sempre ao meu lado, me
apoando e me incentivando a ir em
busca de meus sonhos.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira pela oportunidade de ser sua orientada, pela paciência, pelos ensinamentos, por todo o apoio durante o desenvolvimento deste trabalho e pela confiança na minha capacidade.

À Maria Emília Moraes, minha gestora, por todo apoio e principalmente por ter acreditado na minha capacidade, sem a sua confiança, este projeto não seria possível.

Aos meus pais, Neuza e João, pelo impecável apoio e incentivo por minha ascensão profissional e pessoal, por estarem ao meu lado.

Ao meu querido André, pelo companheirismo, pela amizade e carinho, por sempre me incentivar a ir em busca de meus objetivos, e principalmente pela inesgotável confiança em mim.

Aos meus familiares, que sempre me apoiaram e compartilham comigo cada conquista alcançada, demonstrando o orgulho que sentem por mim.

Aos meus amigos e amigas que me apoiaram nessa caminhada, com confiança e estímulos generosamente oferecidos, estímulos estes que foram fundamentais nos momentos de dificuldades.

Aos amigos do GAPE (Grupo de Análises e Pesquisas em Espectrometria), em especial ao Alexandre, Alexandrina, Aline, Denise, Gabriel, Giselaíne, Ivo, Larissa, Leandro, Lucas e Rodolfo pelo acolhimento, mesmo não podendo estar sempre presente, os momentos compartilhados, a colaboração e a amizade foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Aos Professores Cassiana Seimi Nomura e Diogo Librandi da Rocha pela contribuição ao compor a banca de qualificação.

À Professora Denise Freitas Siqueira Petri pela colaboração e apoio desde o primeiro momento em que manifestei interesse em ingressar no Programa de Mestrado Profissional.

Aos meus colegas do Programa, pela amizade, pela troca de conhecimentos e por tornarem mais leve esta caminhada.

Aos meus colegas de trabalho, pela agradável convivência, e também por compartilharem comigo seus conhecimentos e experiências, obrigada pelo carinho, aprendi muito com vocês.

À Produquímica, uma empresa do Grupo Compass Minerals, pela oportunidade que me concedeu e por acreditar na importância da área de desenvolvimento analítico.

Ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo pela oportunidade de conciliar meu trabalho na empresa com o desenvolvimento de um projeto em parceria com a USP.

Ao LANAGRO – GO por ter participado de um ensaio colaborativo para determinações de arsênio e mercúrio, contribuindo com resultados comparativos para garantir a confiabilidade dos métodos apresentados neste trabalho.

Por fim, gostaria de agradecer a todos que, de forma indireta, também me ajudaram na conclusão deste trabalho, seja com simples palavras de apoio e incentivo ou me dando suporte nas dificuldades. Todo esse esforço, concede-me a oportunidade de finalizar mais uma etapa na minha vida acadêmica.

Muito obrigada!

*“A dúvida é o primeiro passo para se
chegar ao conhecimento”*

René Descartes (1596 – 1650)

RESUMO

Furquim, T.V. **Estudo de métodos para determinações de As, Cd, Cr, Hg e Pb em fertilizantes minerais por MIP OES**. 2018. 113p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências (Química). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de métodos para determinações simultâneas de As e Hg por geração de hidreto e vapor frio e determinações simultâneas de Cd, Cr e Pb por nebulização direta da solução de digeridos dos fertilizantes minerais por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES). Durante o desenvolvimento dos métodos foram empregadas amostras de fertilizantes minerais de programas interlaboratoriais e também Material de Referência Certificado de fertilizante inorgânico (SRM® 695 do NIST). Foram realizadas otimizações nas condições de operação do MIP OES para se obter as melhores condições para determinações dos analitos de interesse. O método por geração química de vapor de As e Hg foi desenvolvido sem a etapa de pré-redução do arsênio, sendo possível a determinação simultânea do As e Hg. A não necessidade da etapa de pré-redução foi constatada em estudos com soluções-padrão de 20 mg L⁻¹ As(III), 20 mg L⁻¹ As(V) e mistura das duas espécies nas mesmas concentrações 10 mg L⁻¹ As(III) + 10 mg L⁻¹ As(V), na ausência e presença de diferentes concentrações de iodeto de potássio (0 a 1% m v⁻¹). Os resultados obtidos demonstraram que não houve influência significativa com o uso do iodeto de potássio, podendo ser eliminada a etapa de pré-redução sem comprometer os resultados. Também foram avaliadas as respostas analíticas obtidas em diferentes concentrações da solução redutora (NaBH₄) para que fosse escolhida a melhor condição de formação de hidreto de arsênio e vapor de mercúrio. Os resultados mostraram que a concentração de 0,5% (m v⁻¹) de NaBH₄ em meio de 0,25% (m v⁻¹) de NaOH foi a que apresentou melhor exatidão. Foram também avaliados os efeitos de matriz na geração química de vapor, com amostra de fertilizante mineral contendo Zn a 10% (m v⁻¹), Cu a 5% (m v⁻¹) e Mn a 9,8% (m v⁻¹), e os resultados obtidos demonstraram que nas condições adotadas, os elementos presentes na amostra não causaram interferências. Com a mesma amostra de fertilizante, também foram realizados testes de efeito de matriz para aplicação do método de determinações de Cd, Cr e Pb, e para estes analitos também foram observados resultados livres de interferências significativas devido à presença de elevada concentração de outros elementos. Os métodos desenvolvidos foram validados de acordo com o Manual de Garantia da Qualidade (MAPA), apresentando boa linearidade para a faixa de trabalho empregada, apresentando $r > 0,99$ e o gráfico de resíduos mostrou um padrão bastante aleatório, ou seja, o modelo linear fornece um ajuste decente aos dados, boa seletividade, não sofrendo interferência da matriz, boa repetibilidade e precisão intermediária, apresentando CV(%) menor que o desvio padrão relativo calculado pela equação de Horwitz e obedecendo aos testes de hipóteses (ANOVA), boa exatidão, com erros relativos entre -1 e -12%, ou seja, menor que 20%, que é o critério de aceitabilidade estabelecido. Os métodos desenvolvidos são comparáveis aos oficiais.

Palavras-chave: Fertilizante mineral, geração química de hidreto e vapor, MIP OES

ABSTRACT

Furquim, T.V. **Evaluation of methods for As, Cd, Cr, Hg and Pb determination in mineral fertilizers by MIP OES.** 2018. 113p. Masters dissertation - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The objective of this work was the development of methods for simultaneous determinations of As and Hg by hydride and vapor generation and simultaneous determinations of Cd, Cr and Pb by direct nebulization of the solution in mineral fertilizers by microwave induced plasma - OES. During development mineral fertilizers samples from the interlaboratory program and also reference material of inorganic fertilizer (SRM[®] 695 - NIST) were used. Optimizations were made in the operation conditions of the MIP OES to obtain better conditions of the interest analytes determination. The method by chemical vapor generation was also optimized, and the arsenic pre-reduction step was taken, so that simultaneous determination of As and Hg was possible, the test evaluated the observed result in standard solutions of As(III), As(V) and a standard solution containing the two species in the same concentration, in the presence of different concentrations of potassium iodide and also in its absence. The results showed that there wasn't significant influence with the usage of potassium iodide, and the pre-reduction stage could be eliminated without impairing the results. The analytical responses obtained at different concentrations of the reducing solution (NaBH₄) were also evaluated in order to obtain the best hydride and vapor formation conditions. The chosen concentration was 0.5% (m v⁻¹) of NaBH₄ in 0.25% (m v⁻¹) NaOH. A matrix effect test with mineral fertilizer sample containing 10% Zn (m v⁻¹), Cu at 5% (m v⁻¹) and Mn at 9.8% (m v⁻¹) was carried out to evaluate the effect of these elements on the reaction of chemical vapor generation, and the results showed that in the adopted conditions, the elements present in the sample didn't cause significant interferences. Matrix effect tests were also performed for the Cd, Cr and Pb determinations, and for these analytes, significant interferences weren't observed due to the presence of high concentrations of Mn, Zn and Cu. The methods developed were validated according to the Manual of Quality Assurance (MAPA), presenting good linearity for the working range employed, presenting $r > 0.99$ and the residual plot showed a fairly random pattern, the linear model provides a decent fit to the data, good repeatability and intermediate precision, presenting lower RSD than the RSD calculated by the Horwitz equation and obeying the hypothesis tests (ANOVA), good accuracy, with relative errors between -1 and - 12%, that is, less than 20%, according to the acceptability established criterion. The methods developed are comparable to the official ones.

Keywords: Mineral fertilizer, chemical generation of hydride and vapor, MIP OES

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS: Espectrometria de absorção atômica (do inglês, *Atomic Absorption Spectroscopy*)

ANDA: Associação Nacional para Difusão de Adubos

ANOVA: Análises de variância (do inglês, *Analysis of Variance*)

AOAC: Associação de Químicos Agrícolas Oficiais (do inglês, *Association Of Official Agricultural Chemists*)

ATSDR: Agência para Registro de Substâncias Tóxicas e de Doenças (do inglês, *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*)

CCD: Dispositivo acoplado de carga (do inglês, *Charge Coupled Device*)

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento

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

CV: Coeficiente de variação

CV AAS: Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (do inglês, *Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry*)

DMA: Analisador de mercúrio por combustão (do inglês, *Direct Mercury Analyser®*)

DPR: Desvio padrão relativo

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

F AAS: Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectroscopy*)

FANES: Emissão ótica em forno com excitação não térmica (do inglês, *Furnace Atomic Non-thermal Excitation Spectrometry*)

FAO: Organização Mundial para Alimentação e Agricultura (do inglês, *Food and Agricultural Organization*)

GAPE: Grupo de Análises e Pesquisas em Espectrometria

GF AAS: Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy*)

HR-CS GF AAS: Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e atomização em forno de grafite (do inglês, *High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)

ICP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*)

ICP-MS: Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)

IPNI: Instituto Internacional de Nutrição Vegetal (do inglês, *International Plant Nutrition Institute*)

IUPAC: União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry*)

LANAGRO: Laboratório Nacional Agropecuário

LD: Limite de detecção

LQ: Limite de quantificação

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MIP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (do inglês, *Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry*)

MSIS®: Sistema multifuncional de introdução de amostras (do inglês, *Multimode Sample Introduction System*)

NIST: National Institute of Standards and Technology

RSD: Desvio padrão relativo (do inglês, *Relative Standard Deviation*)

SD: Desvio padrão (do inglês, *Standard Deviation*)

SDA: Secretaria de Defesa Agropecuária

SRM: Material de Referência Padrão (do inglês, *Standard Reference Material*)

TSD: Teor de sólidos dissolvidos

U.S. EPA: Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (do inglês, *Environmental Protection Agency*)

UV: Radiação ultravioleta

VGA-AAS: Espectrometria de absorção atômica com acessório de geração de vapor (do inglês, *Vapor Generation Accessory for Atomic Absorption Spectroscopy*)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Projeções de crescimento populacional <i>versus</i> área de terras aráveis <i>per capita</i> . <i>Fonte:</i> Anda, 2018.	21
Figura 2. Projeções de demanda mundial de fertilizantes. <i>Fonte:</i> Anda, 2018.....	22
Figura 3. Sistemas de introdução de amostras utilizados no MIP OES: a) Tocha de quartzo <i>Easy Fit</i> [®] ; b) Nebulizador <i>OneNeb</i> [®] ; c) Câmara ciclônica de duplo passo; d) Sistema de introdução de amostras multifuncional <i>MSIS</i> [®]	42
Figura 4. Otimização do fluxo de gás de nebulização para determinação de arsênio.	45
Figura 5. Otimização da posição de visualização para determinação de arsênio. ...	46
Figura 6. Esquema do sistema de introdução de amostras multifuncional <i>MSIS</i> [®] . <i>Fonte:</i> Agilent Technologies, 2014.	49
Figura 7. Esquema do sistema de introdução de amostras multifuncional <i>MSIS</i> [®] acoplado ao MIP OES.....	50
Figura 8. Foto do sistema de introdução de amostras por nebulização direta da solução, usando nebulizador <i>OneNeb</i> [®] e câmara de expansão ciclônica de duplo passo.....	52
Figura 9. Gráfico de intervalos dos resultados de recuperação, obtidos pelas diferentes concentrações de KI.	64
Figura 10. Resultados da solução-padrão e solução da amostra contendo 25 µg L ⁻¹ As.	66
Figura 11. Resultados da solução-padrão e solução da amostra contendo 25 µg L ⁻¹ Hg.....	66
Figura 12. Curva de calibração analítica para As (●) na presença e (●) ausência de matriz.	67

Figura 13. Curva de calibração analítica para Hg (●) na presença e (●) ausência de matriz.	68
Figura 14. Curva de calibração analítica para Cd (●) na presença e (●) ausência de matriz.	71
Figura 15. Curva de calibração analítica para Cr (●) na presença e (●) ausência de matriz.	72
Figura 16. Curva de calibração analítica para Pb (●) na presença e (●) ausência de matriz.	72
Figura 17. Curva de calibração analítica para As.....	76
Figura 18. Análise gráfica de resíduos para As.....	76
Figura 19. Curva de calibração analítica para Hg.....	77
Figura 20. Análise gráfica de resíduos para Hg.....	78
Figura 21. Curva de calibração analítica para Cd.....	79
Figura 22. Análise gráfica de resíduos para Cd.....	79
Figura 23. Curva de calibração analítica para Cr.	80
Figura 24. Análise gráfica de resíduos para Cr.	80
Figura 25. Curva de calibração analítica para Pb.....	81
Figura 26. Análise gráfica de resíduos para Pb.....	82
Figura 27. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de As na amostra 15A/17.....	90
Figura 28. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Cd na amostra 15A/17.....	90
Figura 29. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Cr na amostra 15A/17.....	91

Figura 30. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Hg na amostra 15A/17.....	91
Figura 31. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Pb na amostra 15A/17.....	92
Figura 32. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de As na amostra MRC003.....	94
Figura 33. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Cd na amostra MRC003.....	94
Figura 34. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Cr na amostra MRC003.....	95
Figura 35. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Hg na amostra MRC003.....	95
Figura 36. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Pb na amostra MRC003.....	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores empregados para calcular as concentrações admitidas de contaminantes por massa de fertilizante (mg kg^{-1}).....	27
Tabela 2. Valores empregados para calcular as concentrações admitidas de contaminantes por massa de fertilizante (mg kg^{-1}).....	27
Tabela 3. Parâmetros instrumentais para as determinações de As, Cd, Cr, Hg e Pb por MIP OES.	44
Tabela 4. Condições otimizadas para determinação de As, Cd, Cr, Hg e Pb por MIP OES.....	46
Tabela 5. Comprimentos de onda adotados para as determinações de As, Cd, Cr, Hg e Pb por MIP OES.	47
Tabela 6. Preparo da curva analítica de calibração para determinações de As e Hg	55
Tabela 7. Preparo da curva analítica de calibração para determinações de As e Hg	56
Tabela 8. Resultados de recuperação das espécies de As com e sem a adição de iodeto de potássio.	63
Tabela 9. Resultados do efeito de matriz na curva de analítica de calibração.	68
Tabela 10. Resultados obtidos com o uso do método para determinação de As e Hg	69
Tabela 11. Resultados do efeito de matriz na curva de analítica de calibração.	73
Tabela 12. Resultados obtidos com o uso do método para determinações de Cd, Cr e Pb.....	74
Tabela 13. Análise de variância para regressão da curva analítica para As.....	77

Tabela 14. Análise de variância para regressão da curva analítica para Hg.	78
Tabela 15. Análise de variância para regressão da curva analítica para Cd.	79
Tabela 16. Análise de variância para regressão da curva analítica para Cr.	81
Tabela 17. Análise de variância para regressão da curva analítica para Pb.....	82
Tabela 18. Avaliação da linearidade dos elementos em estudo.	82
Tabela 19. Resultados do material de referência certificado SRM 695®.....	85
Tabela 20. Resultados da repetibilidade para a amostra 15A/17.....	86
Tabela 21. Resultados da repetibilidade para a amostra MRC003.....	87
Tabela 22. Resultados da precisão intermediária para a amostra 15A/17.....	89
Tabela 23. Resultados da precisão intermediária para a amostra MRC003.....	93
Tabela 24. Limites de detecção e quantificação determinados para o MIP OES.....	97
Tabela 25. Resultados de estabilidade do material de referência certificado SRM 695®	98
Tabela 26. Resultados obtidos com o uso dos métodos oficiais do MAPA e LANAGRO-GO.....	99
Tabela 27. Comparação entre os métodos oficiais e os métodos em estudo.....	100

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	21
1.1.	Fertilizantes minerais.....	23
1.2.	Métodos de determinações elementares em fertilizantes.....	28
1.2.1.	Espectrometria de emissão ótica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES)	31
1.2.2.	Geração química de hidretos e vapor frio para amostras em ICPs	34
1.3.	Preparo de amostras	37
2.	OBJETIVO	40
2.1.	Objetivos específicos:.....	40
3.	PARTE EXPERIMENTAL.....	41
3.1.	Instrumentação	41
3.2.	Materiais, reagentes e soluções	42
3.3.	Amostras	43
3.4.	Procedimento experimental	43
3.4.1.	Parâmetros instrumentais do MIP OES	43
3.4.2.	Preparo de amostras	47
3.4.3.	Determinação de As por geração de hidreto e Hg por geração de vapor.....	49
3.4.3.1.	Otimização das condições de formação de hidreto de As	50
3.4.3.2.	Otimização das condições de geração simultânea de vapor para As e Hg ..	51
3.4.3.3.	Avaliação dos efeitos de matriz	51
3.4.3.4.	Determinação simultânea de As e Hg em fertilizantes minerais	51
3.4.4.	Determinação de Cd, Cr, e Pb por nebulização direta da solução	52
3.4.4.1.	Avaliação dos efeitos de matriz	53

3.4.4.2. Determinação de Cd, Cr e Pb em fertilizantes minerais	53
3.5. Validação dos métodos analíticos desenvolvidos	53
3.5.1. Linearidade e faixa de trabalho	54
3.5.2. Seletividade	57
3.5.3. Exatidão.....	57
3.5.4. Precisão (repetibilidade)	58
3.5.5. Precisão intermediária	59
3.5.6. Limite de quantificação	60
3.6. Estabilidade da solução amostra	60
3.7. Comparação entre os métodos propostos e os métodos oficiais	61
4. RESULTADOS	62
4.1. Determinação de As por geração de hidreto e Hg por geração de vapor	62
4.1.1. Otimização das condições de formação do hidreto de As	62
4.1.2. Otimização das condições de geração simultânea de vapor para As e Hg ..	65
4.1.3. Avaliação dos efeitos de matriz	67
4.1.4. Determinação de As e Hg em fertilizantes minerais	69
4.2. Determinação de Cd, Cr e Pb por nebulização direta da solução	70
4.2.1.1. Avaliação dos efeitos de matriz	71
4.2.1.2. Determinação de Cd, Cr e Pb em fertilizantes minerais	73
4.3. Validação dos métodos analíticos desenvolvidos.....	75
4.3.1. Linearidade e faixa de trabalho	75
4.3.2. Seletividade	83
4.3.3. Exatidão.....	84
4.3.4. Precisão (repetibilidade)	85
4.3.5. Precisão intermediária	88

4.3.5.1. Avaliação da amostra de fertilizante mineral 15A/17	88
4.3.5.2. Avaliação da amostra de fertilizante mineral MRC003	92
4.3.6. Limite de quantificação	96
4.4. Estabilidade da solução amostra	98
4.5. Comparação entre os métodos propostos e os métodos oficiais	99
5. CONCLUSÕES	101
REFERÊNCIAS.....	103

1. INTRODUÇÃO

A projeção da demanda de produção de alimentos diante do crescimento populacional nas próximas décadas tem sido um dos maiores desafios da humanidade. Segundo estudos e estimativas da Organização Mundial para a Alimentação e Agricultura (FAO), a produção mundial de alimentos, que era de 2 bilhões de toneladas em 1990 quando a população mundial era de 5,2 bilhões, edeverá passar de 4 bilhões de toneladas no ano de 2025, quando a população mundial deverá ser de 8,3 bilhões de habitantes. O crescimento populacional é inversamente proporcional às áreas de terras aráveis, ou seja, será necessário produzir mais em menor área produtiva, como mostra a Figura 1 (Anda, 2018).

Figura 1. Projeções de crescimento populacional *versus* área de terras aráveis *per capita*.

Fonte: Anda, 2018.

Para garantir o aumento da produção e a qualidade dos alimentos, com uma produção agrícola sustentável, é necessário que os nutrientes removidos do solo pelas culturas sejam repostos por meio da aplicação de fertilizantes, e estes alcancem elevados índices de aproveitamento (IPNI, 2018).

Segundo o IPNI (*International Plant Nutrition Institute*), o Brasil é o 5º maior país do mundo com área de 8.514.876 km², e uma população de 207 milhões de habitantes. A agricultura é altamente desenvolvida, sendo o terceiro maior exportador com 72,2 milhões de hectares de terras, com culturas anuais e perenes, mais 180 milhões de hectares de pastagens, e 9,3 milhões de hectares de florestas plantadas (IPNI, 2018).

As projeções reforçam a tendência do crescimento do consumo de fertilizantes. A demanda mundial de fertilizantes irá crescer em média 3% ao ano até 2019, como mostra a Figura 2, e países em desenvolvimento têm apresentado maiores crescimentos, em torno de 5% ao ano, como o Brasil (Anda, 2018).

Figura 2. Projeções de demanda mundial de fertilizantes. *Fonte:* Anda, 2018.

A previsão da segunda maior colheita de grãos do Brasil, com uma produção de 232,6 milhões de toneladas, foi divulgada no 8º Levantamento da Safra de Grãos 2017/2018 pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab). A estimativa de área também foi destacada, com a entrada de números das culturas de inverno e outras, e pode se tornar a maior da série histórica, com 61,5 milhões de hectares (Conab, 2018).

1.1. Fertilizantes minerais

Os fertilizantes estão definidos na legislação brasileira (Decreto 86.955, de 18 de fevereiro de 1982) como “substâncias minerais ou orgânicas, naturais ou sintéticas, fornecedoras de um ou mais nutrientes para as plantas”. Têm como função repor ao solo os elementos retirados em cada colheita, com a finalidade de manter ou mesmo ampliar o seu potencial produtivo. Sua participação é fundamental para o aumento do rendimento físico da agricultura, isto é, sua produtividade (Dias e Fernandes, 2006; Valderrama *et al*, 2011; Kelmer, 2016). Os fertilizantes minerais são aqueles constituídos por compostos inorgânicos. Também são considerados fertilizantes minerais aqueles constituídos de compostos orgânicos sintéticos ou artificiais, como a ureia – $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, a calciocianamida e os quelatos. Os fertilizantes minerais se subdividem em três classes: a) fertilizantes simples - são os fertilizantes constituídos fundamentalmente de um composto químico, contendo um ou mais nutrientes vegetais, quer sejam eles macro ou micronutrientes ou ambos; b) fertilizantes mistos ou misturas de fertilizantes - são os fertilizantes resultantes da mistura de dois ou mais fertilizantes simples; c) fertilizantes complexos - são misturas de fertilizantes resultantes de processo tecnológico em que se formam dois

ou mais compostos químicos. São misturas produzidas com a participação de matérias-primas (amônia – NH_3 , ácido sulfúrico – H_2SO_4 , ácido fosfórico – H_3PO_4), as quais dão origem a compostos químicos como sulfato de amônio – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dihidrogenofosfato de amônico (MAP) – $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, monohidrogenofosfato de amônico (DAP) – $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Meurer, 2006).

Os nutrientes presentes nos fertilizantes minerais podem ser classificados em dois grupos: macronutrientes, como carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, e micronutrientes, como boro, cloro, cobre, ferro, manganês, molibdênio, zinco, sódio, silício e cobalto. A ausência ou quantidade insuficiente no solo de qualquer um dos nutrientes mencionados, pode comprometer de forma significativa o crescimento e desenvolvimento da planta (Dias e Fernandes, 2006).

A fórmula básica dos fertilizantes minerais, NPK, é baseada nas principais deficiências encontradas no solo e fornece os nutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K). Os teores são dados pelos percentuais de nitrogênio na forma de N elementar, de fósforo na forma de pentóxido de fósforo, P_2O_5 , e de potássio na forma de óxido de potássio, K_2O . O nitrogênio se destaca por ser primordial no aumento da produtividade agrícola, pois é um importante componente das proteínas e da clorofila. O fósforo é responsável pelos processos vitais das plantas, pelo armazenamento e utilização de energia, promove o crescimento das raízes e a melhora da qualidade dos grãos, além de acelerar o amadurecimento dos frutos. O potássio é responsável pelo equilíbrio de cargas no interior das células vegetais, inclusive pelo controle da hidratação e das doenças da planta. O nitrogênio (N), o fósforo (P) e o potássio (K) são os mais importantes nutrientes, do ponto de vista do processo produtivo. Por serem utilizados em quantidades muito pequenas, os

demaís macro e micronutrientes, apesar da importância biológica, não têm expressão econômica na indústria de fertilizantes, nem valorização comercial significativas (Dias e Fernandes, 2006; Valderrama *et al.*, 2011).

Os fertilizantes, sem dúvida, são essenciais para o aumento da produtividade, porém o uso contínuo e prolongado de fertilizantes minerais tem contribuído para o acúmulo de elementos potencialmente tóxicos no solo (Jiao, 2012; Hertley *et al.*, 2013). Os elementos considerados mais tóxicos para a vida humana, registrados na *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, dos Estados Unidos são arsênio (As), chumbo (Pb), mercúrio (Hg) e cádmio (Cd) (Kelmer, 2016; ATSDR, 2018). Esses elementos, juntamente com o cromo, fazem parte hoje de uma das demandas do controle de qualidade dos fertilizantes (Rodella, 2005; Brasil, 2006). O arsênio pode ser encontrado no ambiente, porém, acredita-se que os níveis podem aumentar continuamente devido a fontes antropogênicas, principalmente daquelas oriundas de produtos de uso agroquímicos, como fertilizantes e fungicidas. O resultado é um acúmulo desse elemento na cadeia alimentar. As espécies inorgânicas de arsênio são consideradas como carcinogênicas e são classificadas no Grupo 1, segundo a Agência Internacional de Pesquisas em Câncer. O cádmio e chumbo também são elementos considerados tóxicos e devem ser monitorados em plantas e alimentos (Zeiner, 2017). O cromo na forma hexavalente (Cr^{6+}) é extremamente tóxico e carcinogênico para seres humanos (Cuello, 2016).

No trabalho de Fioroto, foram estudados métodos para avaliação da mobilidade e bioacessibilidade de As, Cd, Cr e Pb em fertilizantes minerais, utilizando broto de milho doce para estudo de translocação. Segundo o estudo, o As e o Cd estão mais móveis e bioacessíveis, o Cr permaneceu ligado a matriz, o Pb apresentou maior mobilidade e bioacessibilidade na mistura de micronutrientes do

que no fertilizante mineral formulado, possivelmente devido à alta concentração de P no fertilizante (Fioroto, 2017).

Sabe-se bem que a presença de elementos potencialmente tóxicos é de considerável preocupação para a saúde humana, visto que muitos desses elementos formam ligações estáveis com proteínas, alterando vários ciclos biológicos (Pérez, 2013). Portanto, o controle dos produtos oriundos da agricultura, pecuária e aquicultura, que podem ser as vias diretas de contaminação dos seres humanos por esses elementos, deve ser prioritário.

Segundo a Instrução Normativa SDA Nº. 27/2006, os limites máximos de elementos potencialmente tóxicos estabelecidos para fertilizantes minerais são determinados de acordo com a sua composição, devido a quantidade de aplicação ao solo ser realizada de acordo com a quantidade de nutrientes presentes no fertilizante, ou seja, a quantidade de contaminantes introduzida no ambiente sofre influência da dose de aplicação (Fioroto, 2017). A Tabela 1 mostra os limites máximos de elementos potencialmente tóxicos admitidos em fertilizantes minerais que contenham o nutriente fósforo, micronutrientes ou com fósforo e micronutrientes em mistura com os demais nutrientes, de acordo com o Anexo I desta Instrução Normativa (Brasil, 2006).

Tabela 1. Valores empregados para calcular as concentrações admitidas de contaminantes por massa de fertilizante (mg kg^{-1})

Elemento potencialmente tóxico	Valores	Valores	Valores máximos admitidos por	
	admitidos por	admitidos por	massa total de fertilizante	
	% P_2O_5	%da somatória	(mg kg^{-1})	
	(mg kg^{-1})	de	Fertilizantes	Fertilizantes de
		micronutrientes	mistos e	fornecimento
		(mg kg^{-1})	complexos*	exclusivo**
	Coluna A	Coluna B	Coluna C	Coluna D
Arsênio (As)	2,00	500,00	250,00	4000,00
Cádmio (Cd)	4,00	15,00	57,00	450,00
Chumbo (Pb)	20,00	750,00	10000	10000,00
Cromo (Cr)	40,00	500,00		-
Mercúrio (Hg)	0,05	10,00		-

* Aplicável aos fertilizantes minerais mistos e complexos com garantia de macronutrientes primários e micronutrientes. ** Aplicável aos fertilizantes fornecedores exclusivamente de micronutrientes e aos fertilizantes com macronutrientes secundários e micronutrientes.

Para os fertilizantes minerais com nitrogênio, potássio, macronutrientes secundários, com até 5% de P_2O_5 , e para os demais não especificados no Anexo I (Tabela 1), os limites máximos admitidos estão apresentados na Tabela 2, de acordo com o Anexo II da Instrução Normativa (Brasil, 2006).

Tabela 2. Valores empregados para calcular as concentrações admitidas de contaminantes por massa de fertilizante (mg kg^{-1})

Elemento potencialmente tóxico	Valores máximos admitidos por massa total de fertilizante (mg kg^{-1})
Arsênio (As)	10
Cádmio (Cd)	20
Chumbo (Pb)	100
Cromo (Cr)	200
Mercúrio (Hg)	0,2

De acordo com a Tabela 2, os fertilizantes que possuem menor concentração de nutrientes primários e secundários na sua composição devem atender a limites mais restritos de contaminantes, devido a sua aplicação ao solo ocorrer em maior quantidade, podendo causar maior contaminação.

1.2. Métodos de determinações elementares em fertilizantes

Com a exigência de determinação de elementos químicos em teores cada vez menores, o uso de técnicas analíticas mais sensíveis tem se tornado cada vez mais realidade. Com isso, as técnicas espectrométricas têm sido utilizadas com bastante frequência devido à alta sensibilidade e adequada exatidão e precisão dos resultados para determinações de elementos presentes em baixas concentrações, como no caso dos contaminantes em fertilizantes. Dentre as técnicas comumente utilizadas para análise de amostras de interesse agrônômico destacam-se a espectrometria de absorção atômica (AAS) e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (Silva, 2009; Li *et al.*, 2013). Além dessas, a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES), por ter características muito semelhantes ao ICP OES, como boa sensibilidade, ser multielementar, e custo mais reduzido, tem sido bastante aplicada em várias determinações elementares em diferentes matrizes (Niedzielski *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2015; Tanabe *et al.*, 2016).

A espectrometria de absorção atômica (AAS) é uma técnica analítica que se baseia na medida da absorção de radiação da região UV ou visível do espectro eletromagnético por átomos gasosos no estado fundamental, sendo a chama (FAAS) e o forno de grafite (GF AAS) os dois tipos de atomizadores mais comumente

empregados (Welz e Sperling, 1999). Em instrumentos convencionais, usualmente uma fonte de radiação específica para cada elemento (fonte de linha) é utilizada, o que implica que apenas as linhas do próprio elemento são emitidas pela fonte (Borges *et al.*, 2005).

A espectrometria de absorção atômica é hoje uma técnica largamente difundida e empregada para a determinação de elementos traço nas mais diversas amostras, devido a sua simplicidade, rapidez e baixo custo, em comparação às outras técnicas (Borges *et al.*, 2005; Kelmer, 2016). No trabalho de Borges e colaboradores, um método analítico foi desenvolvido para determinar Cd em amostras de fertilizantes por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite com fonte contínua de alta resolução (HR-CS GF AAS) usando amostras de suspensão. A HR-CS GF AAS supera várias das limitações encontradas na fonte de linha convencional AAS, especialmente o problema de medição e correção precisas de fundo (Borges *et al.*, 2011).

As técnicas espectrométricas de emissão óptica oferecem muitas vantagens quando comparadas com as espectrometrias de absorção atômica com chama (FAAS) ou com atomização em forno de grafite (GF AAS). Algumas características das técnicas de ICP estão relacionadas à capacidade multielementar, as altas temperaturas dos plasmas que promovem atomização e ionização com grande eficiência, e a baixa reatividade química dos gases formadores do plasma, que evitam interferências químicas. Por requererem sistemas ópticos de média e alta resolução, os equipamentos de ICP são mais caros, se comparados aos de absorção com atomização em chama ou eletrotérmica (Skoog *et al.*, 2002).

O plasma se caracteriza por ser um gás altamente ionizado, eletricamente neutro, composto de íons, elétrons e partículas neutras. É geralmente produzido em

argônio, sustentado por um campo eletromagnético de alta frequência, produzido por uma fonte de radiofrequência (27 ou 40 MHz), pelo campo oscilante produzido por radiação de micro-ondas ou por corrente contínua. Quando essa fonte é combinada com espectrômetros de alta resolução, tem-se uma poderosa técnica de detecção elementar. Entre as técnicas de espectrometria disponíveis comercialmente, a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) vem se destacando hoje pela sua capacidade de determinações multielementares, versatilidade e de sensibilidade (Karlsson et al., 2015; Novaes *et al.*, 2016).

Yang e colaboradores desenvolveram um método por ICP OES para determinação de fósforo em fertilizantes, sendo aplicado para determinação de fósforo total, fósforo disponível por extração direta e fósforo solúvel em água. Foram avaliadas as possíveis interferências de matriz, e também dos ácidos utilizados na digestão das amostras e as interferências foram insignificantes. O método também foi comparado ao oficial da AOAC e as variações observadas foram equivalentes (Yang *et al.*, 2002).

No trabalho de Souza e colaboradores, foi proposto um método analítico para determinação simultânea de macronutrientes (Ca, Mg, Na e P), micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) e oligoelementos (Al, As, Cd, Pb e V) em fertilizantes minerais por ICP OES. Os limites de quantificação (LOQs) variaram de 2,0 mg kg⁻¹ para Mn a 77,3 mg kg⁻¹ para P. A exatidão e precisão do método proposto foram avaliadas por meio de análise de materiais de referência certificados (SRMs) de rocha de fosfato ocidental (NIST 694), rocha de fosfato de Flórida (NIST 120C) e oligoelementos em fertilizante multi-nutrientes (NIST 695). Vinte e uma amostras de fertilizantes minerais coletados no estado de Sergipe foram analisadas. Para todas as amostras, As, Ca, Cd e Pb estiveram abaixo dos valores do LOQ do método analítico. Para As, Cd e Pb os

valores obtidos ficaram abaixo do limite máximo permitido pelo MAPA. O método otimizado apresentou boa precisão e eficácia para aplicação na determinação quantitativa simultânea dos analitos em minerais fertilizantes por ICP OES (Souza *et al.*, 2014)

Machado e colaboradores propuseram o uso de um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS/MS) operando nos modos de *single* quadrupolo e MS/MS para determinação de fertilizantes minerais e gesso agrícola com alto teor de elementos terras raras. Para o modo MS/MS, foi introduzido gás oxigênio no sistema de reação octopolar (ORS³). As amostras foram preparadas por digestão assistida por radiação micro-ondas com solução de ácido nítrico diluído. A exatidão foi verificada por análise de um material de referência certificado para fertilizantes (NIST SRM 695[®]) e por experimentos de adição e recuperação. As recuperações variaram de 59 a 151% ao operar no modo de *single* quadrupolo, enquanto os valores obtidos pelo modo MS/MS variaram de 81 a 105% quando 0,30 mL min⁻¹ de O₂ foi introduzido no ORS³. Os limites de detecção para As⁺ no modo *single* quadrupolo e AsO⁺ no modo MS/MS foram de 6 e 9 ng L⁻¹, respectivamente (Machado, 2016).

1.2.1. Espectrometria de emissão ótica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES)

Em 1960, ocorreu a primeira aplicação da técnica MIP OES. Para muitos campos da química analítica, é grande o interesse na utilização de um plasma que funcione em atmosfera de nitrogênio, devido ao custo significativamente inferior quando comparado ao argônio. É possível reduzir ainda mais o custo de análise

produzindo o gás nitrogênio a partir do ar atmosférico, empregando-se um gerador, e não por cilindros ou sistemas de armazenamento líquidos. Há pouco mais de 6 anos, existe um modelo de equipamento de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivo de micro-ondas disponível comercialmente, que faz uso do gás nitrogênio para formação do plasma (Matusiewicz e Slachcinski, 2016; Niedzielski *et al.*, 2016; Ozbek, 2016).

As fontes de plasma, incluindo plasmas de micro-ondas (MIPs), têm desempenhado papel importante como fontes de atomização e ionização para espectrometria de emissão óptica. Um dos principais desafios é a geração e sustentação do plasma, pois parâmetros como densidade eletrônica, temperatura do plasma, e modo de visualização do plasma (radial ou axial), entre outros, são extremamente relevantes de acordo com a aplicação desejada. A fonte de um plasma induzido por micro-ondas (MIP) consiste, inicialmente, em uma fonte de alimentação de micro-ondas, linha de transmissão (guia de ondas), circulador, aplicador e o gás do plasma (Jankowski, 2013). O MIP OES é uma técnica promissora, que faz uso de um campo magnético formado por micro-ondas, mais barato que as fontes de radiofrequência, de gás nitrogênio que sustenta o plasma, com temperaturas de, aproximadamente, 5000 K. A principal vantagem dessa técnica é o baixo custo de análise comparado ao do ICP OES, que usa argônio para formação e sustentação do plasma. Devido a menor temperatura, é uma técnica com menor sensibilidade para muitos elementos. No entanto, se comparada ao AAS, é mais sensível e tem a possibilidade de realizar determinações multielementares. Por essa razão, torna-se uma técnica muito competitiva (Lima, 2016; Ozbek, 2016; Machado, 2017).

Em geral, o sistema de introdução de amostra é semelhante aos outros ICPs e, normalmente, opera em baixa potência (50-150 W) (Gonçalves *et al.*, 2016; Matusiewicz e Slachcinski, 2016). A técnica MIP OES tolera apenas 3% de teor de sólidos dissolvidos (TSD); qualquer valor acima desta concentração pode causar sérios danos a tocha e comprometer a introdução de amostra. O grande desafio é a determinação de elementos em baixas concentrações, pois a diluição deve respeitar o limite de TSD (Ozbek *et al.*, 2016).

Os elementos metaloides, tais como arsênio, são preferencialmente medidos na forma de hidretos (arsina) voláteis, após redução com boro-hidreto de sódio. Este procedimento diminui os limites de detecção em até duas ordens de grandeza, quando comparado com a introdução de amostras líquidas por nebulização convencional, pois os hidretos são mais eficientemente transportados e dissociados no plasma. Durante uma injeção de fluxo contínuo, a amostra acidificada é continuamente misturada com a solução de boro-hidreto de sódio e ocorre a redução para produzir o gás arsina, o qual é então transportado para o plasma (Tanabe, 2016).

Sendo assim, para determinar baixas concentrações de As e Hg por MIP OES é possível utilizar o sistema de geração de vapor, com sistemas comerciais disponíveis, como o acessório Multimode Sample Introduction System (MSIS®) (Tanabe, 2016).

Métodos aplicando o MIP OES para determinações elementares têm sido propostos, com sucesso, para análises em algumas matrizes, como por exemplo amostras de alimentos e materiais biológicos (Zhao *et al.*, 2015; Niedzielski *et al.*, 2015). No trabalho de Machado, foram propostos métodos para análise de fertilizantes por MIP OES, ICP-MS/MS e HR-CS GFAAS. Uma das estratégias

adotadas foi o acoplamento da geração de hidretos ao MIP OES (HG-MIP OES), que favoreceu a determinação de As, Bi, Ge, Sb e Sn em amostras de fertilizantes, obtendo-se recuperações entre 90 a 114% em experimento de adição e recuperação (Machado, 2018). Todavia, ainda há pouca informação que demonstre o desempenho do MIP OES para matrizes complexas, necessitando de mais estudos e proposição de novos métodos (Neher, 2018).

1.2.2. Geração química de hidretos e vapor frio para amostras em ICPs

A geração química de vapor é a transformação da espécie de interesse em um composto volátil, por meio de uma reação química, sendo uma boa alternativa para a etapa de introdução de amostras (Welz e Sperling, 1999). Diferentes técnicas espectrométricas têm sido acopladas com a geração química de vapor: absorção atômica (AAS) (Macedo *et al.*, 2009), espectrometria de fluorescência atômica (AFS) (Chen *et al.*, 2017), emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) (Machado, 2018), emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (Baika *et al.*, 2016), e espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (Huang *et al.*, 2018). Porém, a mais popular tem sido a espectrometria de absorção atômica (AAS) (Takase *et al.*, 2002).

Esta técnica pode ser empregada para determinações de elementos que formam hidretos à temperatura ambiente, como As, Bi, Ge, Pb, Sb, Sn, Se e Te. Na técnica do vapor frio, o íon de mercúrio contido numa solução da amostra é reduzido a mercúrio elementar, que é o próprio vapor atômico, que então é carregado por uma corrente de gás (ar, N₂ ou Ar), borbulhada através da solução, para a célula de absorção (Welz e Sperling, 1999; Takase *et al.*, 2002; Grotti *et al.*, 2006).

As etapas do processo de determinação espectrométrica por geração química de vapor são basicamente três: a geração da espécie volátil (reação química), o transporte para a célula de atomização e a atomização. A formação dos hidretos ocorre a partir da reação de hidrólise em meio ácido, em presença de um redutor. Geralmente emprega-se o NaBH_4 devido a velocidade com a qual as reações ocorrem. Os radicais de hidrogênio formados a partir desta reação promovem a redução do analito de interesse, dando origem ao hidreto (Takase *et al.*, 2002; Grotti *et al.*, 2006).

Uma das principais vantagens da técnica de geração química de vapor é que, idealmente, apenas o analito forma a espécie volátil, que passa a ser, idealmente, o único componente da amostra a ser transferido para a célula de atomização, minimizando possíveis interferências dos constituintes da matriz. Outra vantagem importante é que o sistema de introdução da amostra (transporte do vapor químico) é mais eficiente do que aqueles baseados na nebulização pneumática convencional, pois praticamente todo o vapor formado chega ao atomizador. Esta técnica também apresenta melhores limites de detecção, devido a maior eficiência de transporte que leva à maior sensibilidade. A geração química de vapor também pode ser acoplada a sistemas que exploram a especiação e é passível de automação (Takase *et al.*, 2002).

Lima e colaboradores propuseram uma extração assistida por ultrassom de mercúrio em fertilizantes inorgânicos para sua determinação por espectrometria de absorção atômica com vapor frio (CV AAS) e espectrometria de emissão óptica induzida por micro-ondas (MIP OES), utilizando SnCl_2 a 10% (m v⁻¹) como agente redutor. Foi acoplado ao equipamento MIP OES o sistema multifuncional de introdução de amostras (MSIS®) para possibilitar a geração de vapor de mercúrio na

câmara do nebulizador. O protocolo otimizado envolveu o tratamento de 150 mg de fertilizante com 4 mL de HCl a 30% (v v⁻¹) dentro de tubos de vidro, utilizando um banho ultrassônico convencional por 5 min. Os resultados analíticos obtidos foram comparados aos resultados observados para determinação de mercúrio por CV AAS e não apresentaram diferenças significativas, porém a técnica por MIP OES apresentou melhores limites de detecção (Lima, 2015).

No trabalho de Macedo e colaboradores, foi proposto um procedimento para a determinação de arsênio total e arsênio (III) em fertilizantes fosfatados e rochas fosfáticas por amostragem de suspensão (SS) com espectrometria de absorção atômica de geração de hidreto (HG-AAS). A vazão de NaBH₄ e as concentrações de NaBH₄ e ácido clorídrico foram otimizadas usando um experimento fatorial de dois níveis e também um modelo Box-Behnken. O preparo da suspensão com ácido clorídrico em banho ultrassônico permitiu a determinação de As(III) com limites de detecção e quantificação de 0,1 e 0,3 µg L⁻¹, respectivamente. Este procedimento foi utilizado para determinar As total e As(III) em duas amostras de rocha fosfática e duas amostras de fertilizantes fosfatados. Nestas amostras, as concentrações totais de arsênio variaram de 5,2 a 20,0 mg kg⁻¹, enquanto as concentrações de As(III) variaram de 2,1 a 5,5 mg kg⁻¹. Todas as amostras foram também analisadas utilizando digestão ácida e HG-AAS. Não foram observadas diferenças significativas entre os procedimentos de preparo de amostras, com base nos resultados de um teste *t* pareado e modelo de regressão linear (nível de confiança de 95%) (Macedo *et al.*, 2009).

1.3. Preparo de amostras

O preparo de amostras é uma das etapas mais críticas dentre as etapas de uma sequência analítica, e é também a que demanda maior tempo, sendo responsável pela maior parte dos erros cometidos em uma análise química (Krug e Rocha, 2016). Embora existam técnicas analíticas que são capazes de analisar amostras sólidas, a maior parte delas ainda necessita que a amostra esteja na forma de solução. O maior problema no preparo de uma amostra para análises de elementos em baixas concentrações é o risco de contaminação devido a diferentes causas, como a pureza dos reagentes, vidrarias empregadas, digestão ou diluição das amostras, ou aos erros relacionado à manipulação da amostra. Uma técnica de preparo de amostras adequada deve evitar erros sistemáticos provenientes de contaminação, sendo importante o uso de reagentes de alta pureza, incluindo a água utilizada nas diluições, perdas por volatilização ou digestão incompleta, ser reprodutível, segura, simples e rápida, com mínima manipulação da amostra (Krug e Rocha, 2016). Para o preparo de amostras de fertilizantes minerais, geralmente é feito uso de ácidos minerais e aquecimento para promover a dissolução química e conversão dos analitos em solução (Lima, 2010).

O grande desafio no preparo de amostras de fertilizantes minerais se dá em função da variação e complexidade de seus constituintes. Essas variações podem ser ocasionadas pelo processo de fabricação empregado e o uso de diversas fontes de matérias-primas, como rochas fosfatadas, minérios, subprodutos e resíduos industriais (Rodella, 2005). Desde modo, as formas de ocorrência dos contaminantes em fertilizantes minerais apresentam grande variação, necessitando, muitas vezes, de diferentes estratégias para se obter uma extração eficiente para os analitos de

interesse. No trabalho de Kelmer, foram propostos métodos para determinações de As, Cd, Cr(III), Cr(VI), Hg, Ni, Pb e Se em fertilizantes minerais por AAS e ICP OES. Os métodos foram otimizados para se obter condições robustas para as determinações de As, Cd, Cr, Ni e Pb em soluções com nebulização direta, e As, Hg e Se com nebulização combinada com geração de vapor. Foram avaliados os métodos de preparo de amostras USEPA 3051, que faz uso de 5 mL de HNO_3 concentrado, e 3052, que faz uso de 1,5 mL de HF + 4,5 mL de HNO_3 , com o uso de radiação micro-ondas para a dissolução e extração dos elementos de interesse. Os resultados obtidos demonstraram que estes métodos podem ser utilizados para as determinações de As, Cd e Pb em fertilizantes minerais. Para realizar as determinações de Cr e Ni, o método oficial foi adaptado, uma vez que não ocorreu a solubilização total da amostra. A inclusão da etapa de adição de H_3BO_4 fez com que os resíduos se dissolvessem, melhorando os resultados obtidos (Kelmer, 2016).

No trabalho de Albuquerque e colaboradores, foi proposto um método para determinação simultânea de alumínio, arsênio, cálcio, cádmio, cromo, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, chumbo, enxofre, selênio, vanádio e zinco em fertilizantes orgânicos por ICP OES. Neste trabalho, foi utilizada digestão por micro-ondas e foram avaliadas diferentes misturas de ácidos para otimização do processo de digestão. A combinação de 3 mL de HNO_3 + 1 mL de HBF_4 + 2 mL de H_2O para o preparo da amostra foi aplicada com sucesso para amostras de fertilizantes orgânicos, substratos e condicionadores de solo (Albuquerque *et al.*, 2017).

O método oficial para determinação de contaminantes inorgânicos, especificamente Cd e Pb, em fertilizantes minerais, segundo o Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizante e Corretivo, emprega sistema aberto de digestão de amostras e faz uso de ácido clorídrico concentrado e posteriormente ácido

clorídrico diluído, na proporção 1:5, para promoção da dissolução da amostra (MAPA, 2017). Este manual não contempla um método oficial para as determinações de As, Cr e Hg, porém, a Instrução Normativa SDA Nº 24, 2017, do MAPA reconhece os métodos da U.S. EPA 3050-B e 3051 como métodos oficiais a serem utilizados para o preparo de amostras de fertilizantes. O método 3050-B também emprega sistema aberto de digestão das amostras de fertilizantes, porém, faz uso de HNO_3 concentrado, HCl concentrado e H_2O_2 . Já o método 3051, faz uso de sistema de digestão fechado, empregando forno com radiação de micro-ondas para promover a digestão das amostras, e esta digestão é realizada em meio de HNO_3 concentrado ou de água régia invertida (3 HNO_3 : 1 HCl) (Brasil, 2007; Machado, 2014).

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver métodos para determinações de arsênio, cádmio, cromo, mercúrio e chumbo em fertilizantes minerais por espectrometria de emissão óptica por plasma induzido por micro-ondas (MIP OES).

2.1. Objetivos específicos:

- Desenvolver método para determinação simultânea de As por geração de hidreto e Hg por geração de vapor em fertilizantes minerais, com preparo de amostras em sistema aberto.
- Desenvolver método para determinação simultânea de Cd, Cr e Pb em fertilizantes minerais com preparo de amostras em sistema aberto e determinação por MIP OES;
- Validar os métodos desenvolvidos com o uso de material de referência certificado SRM 695® e comparação com método oficial (LANAGRO).

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Instrumentação

Foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES), modelo MP-AES 4200 (Agilent Technologies, Austrália), com vista axial e detector CCD (*Charge Coupled Device*). Para formação e sustentação do plasma, foi utilizado gás nitrogênio produzido por Gerador de Nitrogênio 4107 (Agilent Technologies). Para determinação de cádmio, cromo e chumbo foi utilizado um sistema de introdução de amostra composto por nebulizador *OneNeb*[®] e câmara de nebulização ciclônica de duplo passo. Para a geração de hidretos na determinação do arsênio e geração de vapor na determinação de mercúrio, foi utilizado o sistema de introdução de amostra multifuncional MSIS[®], sem fazer uso de nebulizador para formação de aerossol. Foi utilizada tocha de quartzo do modelo *Easy Fit*[®] (Figura 3).

Para digestão de amostras, foi utilizado um equipamento de banho maria (LS6BD, Logen[®]) visando às determinações de arsênio e mercúrio, e uma chapa de aquecimento (C-MAG HP 10, IKA[®]) para as determinações de cádmio, cromo e chumbo.

Para a pesagem das amostras e reagentes, foi utilizada uma balança analítica (Ohaus Adventurer, Toledo do Brasil, São Paulo, Brasil), com precisão de até 0,0001g.

Figura 3. Sistemas de introdução de amostras utilizados no MIP OES: a) Tocha de quartzo *Easy Fit*®; b) Nebulizador *OneNeb*®; c) Câmara ciclônica de duplo passo; d) Sistema de introdução de amostras multifuncional *MS/S*®.

3.2. Materiais, reagentes e soluções

Todo material empregado foi imerso em solução de HNO_3 10% (v v^{-1}) por pelo menos 24 horas para descontaminação. Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura tipo I (SpecSol) de elevado grau de pureza ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$).

As soluções analíticas de referência para determinação de arsênio e mercúrio foram preparadas a partir de soluções estoque contendo 1000 mg L^{-1} de arsênio (As_2O_3), 1000 mg L^{-1} de arsênio (As_2O_5), 1000 mg L^{-1} de mercúrio ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$), 1000 mg L^{-1} de cádmio (CdCl_2), 1000 mg L^{-1} de cromo (CrCl_3) e 1000 mg L^{-1} de chumbo ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) em meio de 1,0% v v^{-1} de ácido nítrico (Merck KgaA, Darmstadt, Alemanha).

Durante o procedimento de digestão, foram utilizados ácidos nítrico e clorídrico de alta pureza (Merck KgaA).

Para o preparo da solução redutora, utilizada na determinação de arsênio e de mercúrio foi utilizado o reagente boro-hidreto de sódio (Sigma Aldrich) e hidróxido de sódio (Vetec). Para teste de pré-redução do arsênio, foi utilizado o reagente iodeto de potássio (Merck KgaA).

3.3. Amostras

Para o desenvolvimento dos métodos foram utilizadas duas amostras de fertilizante mineral para solo do programa interlaboratorial da ANDA (15 A/17 e 15 B/17), duas amostras de fertilizante mineral foliar de programa interlaboratorial da Abisolo (43 A/17 e 43 B/17), e três amostras de material de referência certificado (CRM) - fertilizante mineral (ANDA, MRC003), rocha fosfatada (EMBRAPA, CRM-AGRO E2003a) e suplemento mineral (EMBRAPA, RM-Agro E2001a).

Para a validação dos métodos desenvolvidos, também foi utilizado CRM de fertilizante mineral (SRM[®] 695 - Trace elements in multi-nutrient fertilizer) do National Institute of Standards and Technology (NIST).

3.4. Procedimento experimental

3.4.1. Parâmetros instrumentais do MIP OES

O MIP OES não permite a otimização de alguns parâmetros instrumentais, como por exemplo a potência aplicada, assumindo condições pré-estabelecidas durante

sua fabricação. Por fazer uso do nitrogênio como gás para a formação do plasma, também não é adequado avaliar a robustez do plasma medindo as razões entre as intensidades das linhas de emissão iônica (280,270 nm) e atômica (285,213 nm) do magnésio de uma solução-padrão (1,0 mg L⁻¹ de Mg), uma vez que o plasma não é energético o suficiente para excitar a linha de emissão iônica do magnésio (Mermet e Poussel, 1995). Na Tabela 3 estão apresentadas as condições instrumentais adotadas para as determinações de interesse.

Tabela 3. Parâmetros instrumentais para as determinações de As, Cd, Cr, Hg e Pb por MIP OES.

Parâmetros instrumentais	Método para As e Hg	Método para Cd, Cr e Pb
Potência de radiofrequência	1 kW	1 kW
Gás do plasma N ₂ (L min ⁻¹)	12	12
Gás auxiliar N ₂ (L min ⁻¹)	1,5	1,5
Gás de nebulização N ₂ (L min ⁻¹)	-	0,55 (Cd), 0,90 (Cr), 0,80 (Pb)
Gás de arraste do vapor (L min ⁻¹)	0,55 (As), 0,75 (Hg)	-
Rotação da bomba (rpm)	15	15
Nebulizador	Não aplicado	OneNeb [®]
Câmera de nebulização	MSIS [®]	Câmera ciclônica de duplo passo
Orientação da tocha	Axial	Axial

As otimizações que podem ser realizadas no MIP OES são: o ajuste do melhor fluxo de gás de nebulização e o ajuste da melhor posição de visualização. Estas otimizações foram realizadas pela análise de uma solução-padrão contendo os analitos a serem otimizados, seguindo recomendação do fabricante. Geralmente usa-se a concentração do ponto central da curva analítica de calibração. Durante a leitura da solução-padrão, o próprio equipamento realiza a variação do fluxo de gás de nebulização de 0,30 a 1,0 L min⁻¹, e escolhe o fluxo com melhor relação

sinal/ruído. Ao longo dessa varredura é produzido um gráfico da razão sinal/ruído (SBR) em função da variação do fluxo. A seta representada na Figura 4 indica a melhor condição adotada.

Figura 4. Otimização do fluxo de gás de nebulização para determinação de arsênio.

A otimização da posição de visualização foi realizada da mesma forma que a otimização do fluxo do gás de nebulização. Com a leitura da mesma solução-padrão, o equipamento realiza a variação dos chamados “steps” de -120 a 120, que seriam passos do motor do espelho, que se move para cima ou para baixo em relação ao canal central do plasma. Pode-se considerar o canal central do plasma como sendo o passo 0 e escolher a condição que apresente a melhor relação sinal/ruído (SBR), conforme mostrado na Figura 5.

Figura 5. Otimização da posição de visualização para determinação de arsênio.

As otimizações de fluxo do gás de nebulização e da posição de visualização foram realizadas para todos os elementos. Optou-se por trabalhar com condições otimizadas para cada um dos elementos e não adotar uma mesma condição para todos devido a faixa de trabalho estar muito próxima do limite de detecção, sendo que pequenas variações poderiam comprometer a resposta analítica (Tabela 4).

Tabela 4. Condições otimizadas para determinação de As, Cd, Cr, Hg e Pb por MIP OES.

Elementos	Fluxo do gás de nebulização (L min ⁻¹)	Posição de visualização (passos do motor)
Arsênio	0,55	-10
Cádmio	0,55	0
Cromo	0,90	-10
Mercúrio	0,75	10
Chumbo	0,80	-10

Para as determinações dos elementos de interesse em MIP OES, foram escolhidos os comprimentos de onda que fornecem maior intensidade de sinal, que não apresentam sobreposição de linhas espectrais de outros elementos presentes

nas amostras, e nas regiões com baixa intensidade de sinal de fundo (*background*) (Tabela 5).

Tabela 5. Comprimentos de onda adotados para as determinações de As, Cd, Cr, Hg e Pb por MIP OES.

Elementos	Comprimentos de onda (nm)
Arsênio	193,695 (I)
Cádmio	228,802 (I)
Cromo	425,433 (I)
Mercúrio	253,652 (I)
Chumbo	405,781 (I)

(I) Linhas atômicas

3.4.2. Preparo de amostras

As amostras sólidas utilizadas durante o desenvolvimento dos métodos foram digeridas em sistema aberto. As amostras líquidas, contendo os elementos de interesse solúveis, foram pesadas e diluídas, sem necessidade de digestão prévia. Para as determinações de arsênio e mercúrio foi adicionado ácido clorídrico para concentração final de 1 mol L⁻¹ de HCl. Para as determinações de cádmio, cromo e chumbo foi adicionado ácido nítrico para concentração final de 1,0% v v⁻¹ de ácido nítrico.

Foram utilizados dois métodos de digestão de amostras em sistema aberto. Para as determinações de cádmio, cromo e chumbo, pesou-se 0,250 g das amostras e transferiu-se para béquer de 250 mL, adicionou-se 10 mL de água régia (1 HNO₃: 3 HCl) e os béqueres foram cobertos com vidro de relógio. As amostras foram

digeridas em chapa de aquecimento em temperatura de $100,0 \pm 0,5$ °C até reduzir o volume para aproximadamente 5 mL (estado xaroposo).

Para as determinações de arsênio e mercúrio, pesou-se 0,250 g das amostras e transferiu-se para béquer de 250 mL, adicionou-se 10 mL de ácido clorídrico concentrado e os béqueres foram cobertos com vidro de relógio. As amostras foram digeridas em banho-maria a $70,0 \pm 0,5$ °C até reduzir o volume em aproximadamente 5 mL (estado xaroposo).

As amostras digeridas para as determinações de cádmio, cromo e chumbo foram transferidas para balão volumétrico de 100 mL, e os volumes foram completados com água deionizada. As soluções foram filtradas e foi realizada diluição necessária para que o valor esperado se encontrasse dentro da faixa da curva de calibração. Na solução de leitura, foi adicionado ácido nítrico concentrado, suficiente para que a concentração final estivesse em meio de $1,0\% \text{ v v}^{-1}$ de ácido nítrico.

As amostras para determinações de arsênio e mercúrio foram transferidas para balão volumétrico de 100 mL. Foi adicionado 8,3 mL de ácido clorídrico concentrado, os balões foram completados com água deionizada e homogeneizados, sem necessidade de filtração, visto que a introdução da amostra foi feita por aspiração do sobrenadante e não passou pelo nebulizador.

Tanto no preparo de amostras para As e Hg, quanto o preparo para Cd, Cr e Pb foram conduzidos brancos analíticos com os reagentes utilizados, na ausência da amostra.

3.4.3. Determinação de As por geração de hidreto e Hg por geração de vapor

Para a determinação de arsênio e mercúrio, optou-se por trabalhar com geração de hidreto e vapor, respectivamente. Para a introdução da amostra, foi escolhido o sistema com câmara multifuncional MSIS[®], com introdução da solução da amostra em meio de 1 mol L⁻¹ de HCl pela entrada inferior da câmara. Já na entrada superior foi introduzida a solução redutora. O gás de nebulização foi introduzido na câmara pelo nebulizador, com a função de direcionar a amostra para o plasma e uma saída inferior foi utilizada para drenar a solução após a geração química de vapor. Na Figura 6, é possível observar o esquema da câmara multifuncional MSIS[®].

Figura 6. Esquema do sistema de introdução de amostras multifuncional MSIS[®]. *Fonte:* Agilent Technologies, 2014.

A Figura 7 mostra a montagem do sistema de introdução de amostras multifuncional acoplado ao MIP OES, conforme foi utilizado para introdução de amostras para determinação de As e Hg.

Figura 7. Esquema do sistema de introdução de amostras multifuncional MSIS[®] acoplado ao MIP OES.

3.4.3.1. Otimização das condições de formação de hidreto de As

Foi realizado um experimento para avaliar a necessidade de adição do iodeto de potássio para a referida pré-redução. Foram utilizadas soluções-padrão de As(V) $20 \mu\text{g L}^{-1}$, As(III) $20 \mu\text{g L}^{-1}$ e uma mistura de As(V) e As(III), com concentração total de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de As em HCl 1 mol L^{-1} , sem adição de KI e com adição de 0,25, 0,50 e 1,00% (m v^{-1}) de KI. A curva de calibração utilizada para a determinação de As nessas soluções foi preparada a partir de As(III) em HCl 1 mol L^{-1} .

3.4.3.2. Otimização das condições de geração simultânea de vapor para As e Hg

Neste estudo, foi preparada uma solução-padrão contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de As e $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg em meio de HCl 1 mol L^{-1} para avaliar as respostas analíticas obtidas com o uso da solução redutora em diferentes concentrações. Em seguida foram avaliadas 5 soluções redutoras de NaBH_4 nas concentrações de 0,1 a 0,5% (m v⁻¹), em meio de 0,25% de NaOH (m v⁻¹) para este estudo. Também foi preparada uma solução de amostra com concentração próxima à dos padrões, de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de As e $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg, para avaliar se a condição ideal observada para os padrões também era adequada para a amostra.

3.4.3.3. Avaliação dos efeitos de matriz

Para este teste, utilizou-se amostra de fertilizante mineral contendo Zn a 10% (m v⁻¹), Cu a 5% (m v⁻¹) e Mn a 9,8% (m v⁻¹). Nas soluções finais, esses elementos estariam em concentrações de Zn 250 mg L^{-1} , Cu 125 mg L^{-1} e Mn 245 mg L^{-1} . Para avaliar o efeito de matriz sobre as determinações de As e Hg por geração de hidreto e vapor, foram preparadas soluções analíticas na ausência e na presença da amostra e avaliados os coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas.

3.4.3.4. Determinação simultânea de As e Hg em fertilizantes minerais

Com o método otimizado, foram preparadas sete amostras de fertilizantes minerais provenientes de programas interlaboratoriais para avaliação do

desempenho do método desenvolvido. Primeiramente foram feitas as leituras das soluções-padrão e em seguidas leituras das amostras, em duplicata. Os resultados foram avaliados e comparados aos certificados.

3.4.4. Determinação de Cd, Cr, e Pb por nebulização direta da solução

Para as determinações de Cd, Cr e Pb foi escolhido o sistema de introdução de amostras por nebulização direta da solução, com uso de nebulizador OneNeb®. A nebulização direta da solução é uma das formas de introdução de amostras mais comum nas técnicas de espectrometria atômica. O sistema consiste na introdução da solução da amostra pelo nebulizador, formando um aerossol. As gotículas menores são direcionadas ao plasma e as maiores são eliminadas pela saída do dreno da câmara. A Figura 8 mostra o sistema de introdução de amostras por nebulização direta da solução.

Figura 8. Foto do sistema de introdução de amostras por nebulização direta da solução, usando nebulizador OneNeb® e câmara de expansão ciclônica de duplo passo.

3.4.4.1. Avaliação dos efeitos de matriz

Para avaliar o efeito de matriz sobre as determinações de Cd, Cr e Pb por nebulização da solução dos digeridos, foram preparadas soluções analíticas na ausência e presença da amostra e avaliados os coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas. Para este teste, utilizou-se amostra de fertilizante mineral contendo Zn a 10% (m v⁻¹), Cu a 5% (m v⁻¹) e Mn a 9,8% (m v⁻¹).

3.4.4.2. Determinação de Cd, Cr e Pb em fertilizantes minerais

O método desenvolvido e otimizado foi aplicado para determinações de Cd, Cr e Pb nas sete amostras de programas interlaboratoriais. Após o preparo das amostras, as determinações de cádmio, cromo e chumbo foram realizadas nos extratos diluídos em meio de 1,0% de ácido nítrico v v⁻¹, em MIP OES com condições otimizadas para estes elementos, por nebulização direta das soluções. Foram realizadas as leituras das soluções-padrão, e em seguida as amostras, em duplicata. Os resultados foram avaliados e comparados aos valores dos certificados.

3.5. Validação dos métodos analíticos desenvolvidos

Os parâmetros recomendados para a validação de métodos analíticos desenvolvidos no laboratório são: linearidade e faixa de trabalho, seletividade, exatidão, precisão (repetibilidade), precisão intermediária, limite de quantificação e robustez, esta última sendo opcional (MAPA, 2015).

3.5.1. Linearidade e faixa de trabalho

A relação linear simples é descrita pela equação 1, onde y é a resposta medida, x é a concentração, a é o coeficiente linear (interseção com o eixo y , quando $x = 0$), e b é o coeficiente angular (inclinação da curva analítica = sensibilidade).

$$y = a + bx \quad (1)$$

Para a construção da curva de calibração são necessários ao menos cinco níveis de concentração distribuídos na faixa de trabalho pretendida, com no mínimo três replicatas em cada nível. Após a construção da curva de calibração, obtêm-se os coeficientes do modelo da regressão linear simples, os resíduos (diferença entre o valor observado e o valor calculado pela equação da reta de regressão para cada valor de x), e o coeficiente de correlação linear (r), que indica o quanto a reta pode ser considerada adequada como modelo matemático. Os resíduos devem ser representados graficamente e observado se há comportamento aleatório, um indicativo de que o modelo linear é adequado (Gonzáles, 2007).

As faixas de trabalho foram determinadas com base nos limites legais para cada um dos contaminantes. Para as determinações de arsênio e mercúrio, foi preparada uma solução estoque A, a partir de 10,0 g da solução-padrão de 1000 mg L⁻¹ de As e 1,0 g da solução-padrão de 1000 mg L⁻¹ de Hg. Essas massas foram pesadas em balão volumétrico de 100 mL e completado o volume com água deionizada. A concentração final desta solução foi de 100 mg L⁻¹ de As e 10 mg L⁻¹ de Hg. A partir da solução estoque A, foi preparada a solução estoque B,

transferindo-se uma alíquota de 1 mL para balão volumétrico de 100 mL, adicionado 1 mL de HCl concentrado e completado o volume com água deionizada. A concentração final desta solução foi de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de As e $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg, esta solução foi utilizada para preparo da curva analítica de calibração (Tabela 6).

Tabela 6. Preparo da curva analítica de calibração para determinações de As e Hg

Pontos da Curva*	Volume de HCl (mL)	Volume da Sol. Estoque B (mL)	Conc. As ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc. Hg ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc. de HCl (mol L^{-1})
Branco	4,2	0,0	0	0	1
Ponto 1	4,2	1,0	20	2	1
Ponto 2	4,2	2,0	40	4	1
Ponto 3	4,2	4,0	80	8	1
Ponto 4	4,2	6,0	120	12	1
Ponto 5	4,2	8,0	160	16	1

*Soluções preparadas em balão volumétrico de 50 mL.

Para as determinações de cádmio, cromo e chumbo foi preparada uma solução estoque A, pesando-se em balão volumétrico de 50 mL 1,0 g da solução-padrão de 1000 mg L^{-1} de Cd, 10,0 g da solução-padrão de 1000 mg L^{-1} de Cr, e 5,0 g da solução-padrão de 1000 mg L^{-1} de Pb e completado o volume com água deionizada. A concentração final desta solução foi de 20 mg L^{-1} de Cd, 200 mg L^{-1} de Cr e 100 mg L^{-1} de Pb. A partir da solução estoque A, foi preparada a solução estoque B, transferindo-se uma alíquota de 2,5 mL para balão volumétrico de 100 mL, adicionado 1 mL de HNO_3 concentrado e completado o volume com água deionizada. A concentração final desta solução foi de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Cd, 5 mg L^{-1} de Cr e $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Pb, esta solução foi utilizada para preparo da curva analítica de calibração (Tabela 7).

Tabela 7. Preparo da curva analítica de calibração para determinações de As e Hg

Pontos da Curva*	Volume HNO ₃ (mL)	Volume da Sol. Estoque B (mL)	Conc. Cd (µg L ⁻¹)	Conc. Cr (µg L ⁻¹)	Conc. Pb (µg L ⁻¹)	Conc. de HNO ₃ (v v ⁻¹)
Branco	0,5	0,0	0	0	0	1
Ponto 1	0,5	1,0	10	100	50	1
Ponto 2	0,5	2,0	20	200	100	1
Ponto 3	0,5	4,0	40	400	200	1
Ponto 4	0,5	6,0	60	600	300	1
Ponto 5	0,5	8,0	80	800	400	1

*Soluções preparadas em balão volumétrico de 50 mL.

As curvas analíticas de calibração foram construídas a partir da média de três replicatas de cada solução analítica. Os resultados foram tratados por métodos estatísticos apropriados para determinação do coeficiente de correlação (r), intersecção com o eixo Y, coeficiente angular, resíduos e o gráfico dos resíduos, utilizando software Minitab®. A equação para o coeficiente de correlação do momento do produto Pearson, r está representada a seguir:

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}} \quad (2)$$

Para que o parâmetro seja considerado aprovado, o valor de r deve ser superior a 0,99, os resíduos padronizados não devem ser maiores que 2 vezes o desvio padrão residual, e o gráfico de resíduos deve apresentar aleatoriedade, indicando que o modelo linear é adequado.

3.5.2. Seletividade

Para a comprovação da seletividade do método, foram utilizados os resultados observados no estudo de efeito de matriz, visto que a seletividade é a extensão na qual um procedimento analítico pode determinar analitos particulares em misturas ou matrizes sem a interferência de outros componentes de comportamento semelhante (Rios, 2017).

3.5.3. Exatidão

Para a avaliação da exatidão, foi utilizado o CRM de fertilizante mineral (SRM® 695 - *Trace elements in multi-nutrient fertilizer*) do NIST. O valor encontrado na amostra foi comparado ao certificado e a exatidão foi expressa pela relação entre a concentração determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente (Equação 3).

$$Exatidão (\%) = \frac{Concentração\ Média\ Experimental}{Concentração\ Teórica} \times 100 \quad (3)$$

O intervalo de confiança foi calculado de acordo com a fórmula:

$$IC = \frac{ts}{\sqrt{n}} \quad (4)$$

onde s é o desvio padrão entre as triplicatas, n é o número de repetições, e t é valor tabelado em função de graus de liberdade ($n-1$) e nível de significância (α). Portanto, temos:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

onde μ é o valor verdadeiro (certificado) e $\bar{x}$ é a média obtida entre as repetições.

Também é possível avaliar a exatidão pelo cálculo do erro relativo (ER), expresso em porcentagem (Equação 6):

$$ER(\%) = \frac{X_{LAB} - X_V}{X_V} \times 100 \quad (6)$$

onde X_{LAB} é a média dos valores obtidos experimentalmente e X_V é o valor do certificado do CRM. Para que a exatidão seja considerada válida, a diferença percentual do valor predito com a média dos resultados encontrados deve ser $\leq 20\%$ (MAPA, 2015).

3.5.4. Precisão (repetibilidade)

Para o estudo de repetibilidade, foram utilizadas duas amostras com concentrações diferentes de analitos. Foram preparadas 8 replicadas de cada amostra e analisadas no mesmo dia. A repetibilidade foi avaliada pelo cálculo do coeficiente de variação (Equação 7):

$$CV\% = \frac{\text{Desvio Padrão}}{\text{Concentração Média Experimental}} \times 100 \quad (7)$$

Como critério de aceitabilidade, foi considerada a equação de Horwitz, utilizando a média da concentração encontrada para cada amostra. O valor de Horwitz é derivado da equação de Horwitz (Equação 8):

$$DPRr = 2^{(1-0,5\log C)} \quad (8)$$

onde DPRr é o desvio padrão das repetições e C é a concentração adimensional do analito. O valor obtido pelo coeficiente de variação deve ser menor que o valor calculado pela equação de Horwitz para que o método seja considerado preciso.

3.5.5. Precisão intermediária

O estudo de precisão intermediária foi realizado com intervalo de uma semana. Foram utilizadas as mesmas amostras do estudo de repetibilidade, com novo preparo de 8 replicatas de cada amostra e analisadas no mesmo dia. Foi aplicado o cálculo do coeficiente de variação e considerada a equação de Horwitz. O desvio padrão relativo entre as 16 replicatas de cada amostra não deve ser maior que o DPR calculado pela equação de Horwitz. Foi realizado teste de hipótese (ANOVA) para verificar a semelhança entre as variâncias obtidas nos dois dias diferentes. Foi aplicado o teste F, devido ao estudo possuir dois grupos de dados, que também obedecem a distribuição normal. Para testar a hipótese nula de que $\sigma_1/\sigma_2 = \rho$ com o teste F, o Minitab® utiliza as fórmulas a seguir:

$$Estatística F = \frac{s_1^2}{\rho^2 s_2^2} \quad (9)$$

onde ρ é a razão entre o desvio padrão da primeira população e o desvio padrão da segunda população, s_1^2 é a variância do primeiro grupo e s_2^2 é a variância do segundo grupo de dados. A hipótese nula é que as variâncias são iguais, e a hipótese alternativa é que as variâncias não são iguais. Se o valor de ρ for maior que o nível de α (0,05), a hipótese nula de que as variâncias são iguais deve ser aceita.

3.5.6. Limite de quantificação

Os limites de detecção (LD) e LQ para as determinações de arsênio, cádmio, cromo, mercúrio e chumbo foram calculados a partir do desvio padrão de 10 medidas do branco analítico, de acordo com as equações 10 e 11.

$$LD = \frac{3 \cdot SD_{BRANCO}}{\text{coeficient e angular}} \quad (10)$$

$$LQ = \frac{10 \cdot SD_{BRANCO}}{\text{coeficient e angular}} \quad (11)$$

3.6. Estabilidade da solução amostra

Uma prática bastante comum no laboratório de rotina é promover a digestão das amostras sem, necessariamente, realizar as determinações no mesmo dia. Por essa razão, foi realizado um estudo de estabilidade das soluções amostra preparadas para avaliar as possíveis variações que poderiam ocorrer em função do tempo. Os resultados foram avaliados de acordo com o desvio padrão obtido.

3.7. Comparação entre os métodos propostos e os métodos oficiais

Conforme o Manual de Método Oficiais para Fertilizantes e Corretivos (Brasil, 2017), foram testadas algumas amostras para avaliação da variação encontrada entre o método desenvolvido para determinação de cádmio, cromo e chumbo e os métodos oficiais, por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS).

O Manual Oficial não contempla os métodos para determinações de arsênio e mercúrio, por essa razão, foi realizado um estudo em parceria com o LANAGRO de Goiás, laboratório do MAPA responsável pelas análises de fertilizantes minerais, empregando os métodos por eles utilizados atualmente, como o uso de espectrometria de absorção atômica com acessório de geração de vapor (VGA-AAS) para determinação de As por geração de hidretos e analisador de mercúrio por combustão (DMA) para determinação de Hg por decomposição térmica da amostra.

4. RESULTADOS

4.1. Determinação de As por geração de hidreto e Hg por geração de vapor

As formações do hidreto de arsênio e do vapor de mercúrio no estado fundamental ocorrem em contato com a solução de NaBH_4 , em presença de HCl , conforme as reações a seguir:

Estas reações ocorrem dentro da câmara do sistema multifuncional de introdução de amostras MSIS®, logo quando a solução redutora e a solução amostra entram em contato, formando grande quantidade de hidreto de arsênio e vapor de mercúrio, o que aumenta a sensibilidade da resposta analítica.

4.1.1. Otimização das condições de formação do hidreto de As

Após digestão ácida da amostra a forma de As(V) deve prevalecer, no entanto, a forma As(III) também pode estar presente. Em geral, é proposto na literatura o uso de iodeto de potássio para promover a pré-redução do As(V) para As(III) , forma em que a cinética da reação para formação hidretos é mais rápida (Grotti, 2006). Sendo assim, foram realizados os testes para avaliação da necessidade da adição de KI para promover a pré-redução do As(V) para As(III) , como mostra a reação a seguir:

Considerando a cinética lenta da reação de formação do hidreto de As(V), foi feito o estudo para avaliar a eficiência da pré-redução do mesmo à As(III) com iodeto, conforme mostrado na Tabela 8. Contrariamente ao que se é colocado na literatura, tanto o As(III) como o As(V) mostraram-se eficientes para a formação do hidreto. As recuperações para cada uma das espécies de As e misturas das mesmas, sem a adição do iodeto, ficaram entre 96 e 98%.

Tabela 8. Resultados de recuperação das espécies de As com e sem a adição de iodeto de potássio.

KI (%)	Soluções-Padrão	Conc. Teórica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc. Experimental $\pm$ DP*($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
0,00	As(III)	20	$19,3 \pm 2,2$	96
	As(V)	20	$19,3 \pm 1,8$	96
	As(III) + As(V)	10 + 10	$19,5 \pm 1,6$	98
0,25%	As(III)	20	$22,0 \pm 0,9$	110
	As(V)	20	$17,1 \pm 1,2$	85
	As(III) + As(V)	10 + 10	$19,5 \pm 1,5$	97
0,50%	As(III)	20	$22,7 \pm 1,7$	113
	As(V)	20	$19,9 \pm 1,7$	100
	As(III) + As(V)	10 + 10	$20,4 \pm 0,4$	102
1,0%	As(III)	20	$23,5 \pm 2,1$	117
	As(V)	20	$20,3 \pm 2,7$	101
	As(III) + As(V)	10 + 10	$18,3 \pm 1,3$	92

*DP = desvio padrão

Com os resultados de recuperação, foi realizado o teste de hipótese (ANOVA) utilizando o software estatístico Minitab®, resultando em valor de p igual a 0,672, ou seja, aceita-se a hipótese nula de que todas as médias são iguais, com 95% de confiança. Também foi construído um gráfico de comparação entre os intervalos calculados pelo desvio padrão combinado (Figura 9).

Figura 9. Gráfico de intervalos dos resultados de recuperação, obtidos pelas diferentes concentrações de KI.

Esta avaliação foi realizada para que o método desenvolvido pudesse ser utilizado para a determinação de As e de Hg simultaneamente. A adição do KI em solução contendo Hg^{2+} , pode reagir com o mercúrio e formar o HgI_2 , como mostra a reação a seguir, um sal pouco solúvel ($K_{ps} = 1,1 \times 10^{-28}$), não sendo possível sua determinação via geração de vapor.

Também pode ocorrer a formação de complexo com mercúrio como o HgI_4^{2-} , podendo prejudicar a redução do Hg^{2+} a Hg^0 , forma em que se apresenta estado de vapor e é determinado.

Avaliando os resultados obtidos com as diferentes concentrações de KI, foi possível observar que não há diferenças significativas entre as soluções sem adição desse redutor e com diferentes concentrações de KI. As amostras sem adição apresentaram resultados de recuperações dentro do intervalo aceito pelo MAPA, que é de $\pm 20\%$, informado no Manual de Garantia da Qualidade Analítica (MAPA, 2015). Este bom desempenho pode ser explicado pela reação de formação de hidreto ocorrer na câmara de introdução de amostras, fazendo com que grande quantidade de vapor chegue ao plasma, além de que o As(V) também consegue formar hidretos, embora a reação seja mais lenta (Grotti, 2006). Deste modo, foi possível seguir com o método para determinação simultânea de As e Hg sem uso de iodeto para pré-redução.

4.1.2. Otimização das condições de geração simultânea de vapor para As e Hg

Durante a geração de vapor, que ocorre dentro da câmara de reação, há liberação de H_2 , que se ocorrer em grande quantidade pode perturbar o plasma, fazendo com que a quantidade de gás seja tão grande que o plasma não se sustente e venha a se extinguir. Desta forma, é interessante trabalhar com a menor concentração possível de solução redutora, sem que haja comprometimento na redução das espécies de interesse (As e Hg) para formação do vapor. Foram realizados os testes para avaliar as respostas obtidas pela solução-padrão e solução

amostra em diferentes concentrações de NaBH_4 . Os resultados podem ser observados nos gráficos a seguir (Figura 10 e 11).

Figura 10. Resultados da solução-padrão e solução da amostra contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ As.

Figura 11. Resultados da solução-padrão e solução da amostra contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Hg.

Observando os resultados obtidos no teste para As, as concentrações de 0,4 e 0,5% de NaBH_4 (m v^{-1}) poderiam ser escolhidas. Porém, ao observar os resultados

obtidos no teste para Hg, há uma diferença significativa entre a concentração de 0,4 e 0,5% de NaBH_4 (m v^{-1}). Avaliando os resultados dos dois testes, foi escolhida a concentração de 0,5% de NaBH_4 (m v^{-1}) em 0,25% NaOH (m v^{-1}).

4.1.3. Avaliação dos efeitos de matriz

As amostras de fertilizantes minerais possuem elevada concentração de metais de transição, o que pode causar interferência na geração do vapor e nas intensidades dos sinais obtidos nas determinações de elementos traço. Foram avaliadas as inclinações das curvas de calibração analítica obtidas com soluções-padrão e com adição na amostra de fertilizante mineral. As concentrações de As e Hg esperadas na solução da amostra após a digestão eram de aproximadamente $46,25 \mu\text{g L}^{-1}$ de As e $3,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg. As curvas obtidas para As e Hg podem ser observadas nas Figuras 12 e 13, a seguir.

Figura 12. Curva de calibração analítica para As (●) na presença e (●) ausência de matriz.

Figura 13. Curva de calibração analítica para Hg (●) na presença e (●) ausência de matriz.

A razão entre os coeficientes angulares das equações das retas nos dois meios pode ser um importante indicativo da existência ou não de interferência provocada pela matriz. Quanto mais próximo da unidade for o valor desta razão, menor o efeito de matriz sobre a determinação dos elementos. Os resultados estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados do efeito de matriz na curva de analítica de calibração.

Elementos	α_1 Curva Padrão	α_2 Curva com adição	Razão (α_1 / α_2)
Arsênio	34,348	32,828	1,05
Mercúrio	140,61	138,91	1,01

De acordo com as razões observadas entre os coeficientes, foi possível concluir que não há interferências significativas da matriz sobre as determinações de As e Hg por geração de hidreto e vapor.

4.1.4. Determinação de As e Hg em fertilizantes minerais

O método desenvolvido e otimizado foi utilizado para determinação de As e Hg em amostras de programas interlaboratoriais. As amostras foram analisadas em duplicatas, os resultados foram avaliados e comparados aos certificados (Tabela 10).

Tabela 10. Resultados obtidos com o uso do método para determinação de As e Hg

Material	As (mg kg ⁻¹)			Hg (mg kg ⁻¹)		
	Certificado	Encontrado ± DP*	Erro Relativo (%)	Certificado	Encontrado ± DP*	Erro Relativo (%)
15A/17	18,5 ± 1,0	16,8 ± 0,5	-9	1,4 ± 0,3	1,3 ± 0,05	-10
15B/17	16,5 ± 1,0	14,7 ± 0,5	-11	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,05	-6
E2003a	15,5 ± 7,3	13,5 ± 0,5	-13	-		
MRC003	132 ± 12	138 ± 8	5	911 ± 106**	795 ± 105**	-13
E2001a	484 ± 205**	399 ± 28**	-18	-		
43A/17	7,32 ± 0,9	7,42 ± 0,05	1	-		
43B/17	6,58 ± 0,8	6,29 ± 0,05	-4	-		

* Desvio padrão (n =2)

** µg kg⁻¹

Comparando-se os resultados obtidos pelo método desenvolvido para determinação de As e Hg com os valores certificados, foi possível observar que os erros relativos variaram entre -18 e 1, ou seja, dentro da faixa de <20% estabelecida pelo Manual do MAPA para esta verificação (confirmação) de desempenho. Com base nestes resultados, seguiu-se com os testes de validação do método e avaliar a sua confiabilidade para ser adotado na rotina do laboratório.

4.2. Determinação de Cd, Cr e Pb por nebulização direta da solução

O processo de nebulização sofre influência direta das variações de propriedades físicas das soluções das amostras. A presença de sais inorgânicos pode provocar o entupimento dos sistemas de nebulização e contribuir para a formação de cristais na tocha, diminuindo sua vida útil. A viscosidade influencia na diminuição da taxa de aspiração, podendo causar o aumento do diâmetro das gotas e diminuição da eficiência de nebulização. A tensão superficial também influencia no diâmetro das gotículas. Os solventes orgânicos, por possuir menor tensão superficial, aumentam significativamente a sensibilidade da resposta analítica. A pressão de vapor pode causar mudanças no transporte das gotículas até o plasma. Por esta razão, recomenda-se que a curva analítica de calibração seja preparada nas mesmas condições em que a amostra, para se obter propriedades físicas semelhantes, evitando que estas variações comprometam o resultado.

Para este estudo, o nebulizador OneNeb[®] foi escolhido por apresentar tecnologia *Flow Blurring*, que promove a formação de um fluxo turbulento entre a solução e o gás de nebulização, melhorando a eficiência de nebulização por proporcionar um aerossol mais homogêneo (Machado, 2018). A câmara ciclônica também apresenta algumas vantagens, uma delas é que a ação ciclônica melhora a sensibilidade (ideal para plasma axial), sua limpeza é rápida, melhorando a repetibilidade e é compatível com a maioria dos nebulizadores.

4.2.1.1. Avaliação dos efeitos de matriz

Foram avaliadas as inclinações das curvas de calibração analítica obtidas com soluções-padrão e com adição na amostra de fertilizante mineral. As concentrações de Cd, Cr e Pb esperadas na solução amostra após a digestão eram de aproximadamente $39,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, $276,25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr e $146,25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. As curvas obtidas para Cd, Cr e Pb podem ser observadas nas Figuras 14, 15 e 16, a seguir.

Figura 14. Curva de calibração analítica para Cd (●) na presença e (●) ausência de matriz.

Figura 15. Curva de calibração analítica para Cr (●) na presença e (●) ausência de matriz.

Figura 16. Curva de calibração analítica para Pb (●) na presença e (●) ausência de matriz.

Os resultados das razões entre os coeficientes angulares das equações das retas obtidas na presença e na ausência da amostra, para Cd, Cr e Pb, estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 11. Resultados do efeito de matriz na curva de analítica de calibração.

Elementos	α_1 Curva Padrão	α_2 Curva com adição	Razão (α_1 / α_2)
Cádmio	20,908	20,152	1,04
Cromo	50,547	50,349	1,00
Chumbo	5,2383	5,0501	1,04

De acordo com as razões observadas entre os coeficientes, foi possível concluir que não houve interferências significativas da matriz sobre as determinações de Cd, Cr e Pb por nebulização direta da solução.

4.2.1.2. Determinação de Cd, Cr e Pb em fertilizantes minerais

O método desenvolvido foi utilizado para determinação de Cd, Cr e Pb nas amostras de programas interlaboratoriais utilizadas na determinação de As e Hg. As amostras foram analisadas em duplicatas, os resultados foram avaliados e comparados aos certificados (Tabela 12).

Tabela 12. Resultados obtidos com o uso do método para determinações de Cd, Cr e Pb

Material		15A/17	15B/17	E2003a	MRC003	E2001a	45A/17	45B/17
Cd (mg kg ⁻¹)		15,8 ±	13,5 ±	21,3 ±		425 ±		
	Certificado	1,8	1,5	3,0	104 ± 3,4	76**	361 ± 24	327 ± 22
	Encontrado	15,7 ±	12,9 ±	19,9 ±		362 ±		
	± DP*	0,9	0,6	1,0	97,8 ± 2,4	38**	370 ± 1	323 ± 1
	Erro Relativo (%)	-1	-4	-6	-6	-15	3	-1
Cr (mg kg ⁻¹)	Certificado	111 ± 10	99 ± 7	289 ± 19	74,7 ± 11	-	233 ± 16	209 ± 15
	Encontrado							
	± DP*	117 ± 4	106 ± 3	264 ± 6	78,5 ± 3,9		225 ± 3	203 ± 4
	Erro Relativo (%)	6	7	-8	5		-4	-3
Pb (mg kg ⁻¹)		1170 ±				18,5 ±		
	Certificado	70	970 ± 55	-	2325 ± 84	9,6	231 ± 16	209 ± 15
	Encontrado	1082 ±			2127 ±	15,1 ±		
	± DP*	27	922 ± 24		155	0,4	233 ± 2	209 ± 2
	Erro Relativo (%)	-8	-5		-9	-19	1	0

* Desvio padrão (n =2)

** µg kg⁻¹

Comparando-se os resultados obtidos pelo método desenvolvido para determinação de Cd, Cr e Pb com os valores certificados, foi possível observar que os erros relativos foram de -19 a 7, ou seja, também estão dentro da faixa de <20% estabelecida pelo Manual do MAPA para esta verificação (confirmação) de desempenho. Com base nestes resultados, seguiu-se com os testes de validação do método e avaliar a sua confiabilidade para ser adotado na rotina do laboratório.

4.3. Validação dos métodos analíticos desenvolvidos

Após o desenvolvimento de um novo método, são necessários testes estatísticos para garantir que este método produza resultados confiáveis, podendo ser adotado na rotina analítica de um laboratório. Este processo é conhecido como validação de procedimento analítico e deve seguir normas vigentes específicas para cada área de aplicação. Os métodos desenvolvidos para o controle de qualidade de fertilizantes devem seguir as diretrizes do Manual de Garantia da Qualidade Analítica (MAPA, 2015), que foi elaborado de acordo com a norma ISO/IEC 17025.

Foram realizados os testes dos parâmetros recomendados pelo Manual de Garantia da Qualidade do MAPA e os resultados foram avaliados, de acordo com o critério de aceitabilidade estabelecido para cada parâmetro.

4.3.1. Linearidade e faixa de trabalho

A linearidade de um procedimento analítico é a sua habilidade em obter resultados os quais são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra e a faixa de trabalho é o intervalo entre a menor concentração e a maior concentração de um analito na amostra para o qual se demonstrou que o procedimento analítico tem um nível aceitável de precisão, exatidão e linearidade (Eurachem guide, 2014; INMETRO, 2017). Para o estudo de linearidade, construiu-se uma curva de calibração analítica a partir das médias de três replicatas de cada ponto. Foi avaliado o coeficiente de correlação e os resíduos padronizados de cada curva obtida.

A Figura 17 mostra a curva de calibração ajustada para As e na Figura 18 é possível observar a análise gráfica dos resíduos.

Figura 17. Curva de calibração analítica para As.

Figura 18. Análise gráfica de resíduos para As.

Foi realizada uma análise de variância (Tabela 13) pelo software Minitab®, na qual pode-se observar que o valor de p se mostrou menor que 0,05 (nível de

significância) garantindo a validade da regressão linear com nível de 95% de confiança.

Tabela 13. Análise de variância para regressão da curva analítica para As.

Fonte	Graus de Liberdade	SQ*	QM**	F	P
Regressão	1	46187359	46187359	4359,98	0,000
Erro	13	137715	10593		
Total	14	46325074			

SQ* – Soma Quadrática (para a regressão é calculado como a soma quadrática da diferença entre o valor calculado da resposta e a média das respostas obtidas. Para os resíduos SQ é calculado como a soma quadrática da diferença entre a resposta obtida e a resposta calculada para os níveis da linearidade).

QM** – Média Quadrática (é o SQ dividido pelo respectivo grau de liberdade).

F – É a QM da regressão dividido pela QM do resíduo.

A Figura 19 mostra a curva de calibração ajustada para Hg e na Figura 20 pode-se observar a análise gráfica dos resíduos. E na Tabela 14 é possível observar os resultados da análise de variância.

Figura 19. Curva de calibração analítica para Hg.

Figura 20. Análise gráfica de resíduos para Hg.

Tabela 14. Análise de variância para regressão da curva analítica para Hg.

Fonte	Graus de Liberdade	SQ	QM	F	P
Regressão	1	7286951	7286951	1492,42	0,000
Erro	13	63474	4883		
Total	14	7350426			

A Figura 21 mostra a curva de calibração ajustada para Cd e na Figura 22 pode-se observar a análise gráfica dos resíduos. E na Tabela 15 é possível observar os resultados da análise de variância.

Figura 21. Curva de calibração analítica para Cd.

Figura 22. Análise gráfica de resíduos para Cd.

Tabela 15. Análise de variância para regressão da curva analítica para Cd.

Fonte	Graus de Liberdade	SQ	QM	F	P
Regressão	1	4199963	4199963	2661,6	0,000
Erro	13	20514	1578		
Total	14	4220477			

A Figura 23 mostra a curva de calibração ajustada para Cr e na Figura 24 pode-se observar a análise gráfica dos resíduos. E na Tabela 16 é possível observar os resultados da análise de variância.

Figura 23. Curva de calibração analítica para Cr.

Figura 24. Análise gráfica de resíduos para Cr.

Tabela 16. Análise de variância para regressão da curva analítica para Cr.

Fonte	Graus de Liberdade	SQ	QM	F	P
Regressão	1	2551894140	2551894140	76225,33	0,000
Erro	13	435218	33478		
Total	14	2552329358			

A Figura 25 mostra a curva de calibração ajustada para Hg e na Figura 26 pode-se observar a análise gráfica dos resíduos. E na Tabela 17 é possível observar os resultados da análise de variância.

Figura 25. Curva de calibração analítica para Pb.

Figura 26. Análise gráfica de resíduos para Pb.

Tabela 17. Análise de variância para regressão da curva analítica para Pb.

Fonte	Graus de Liberdade	SQ	QM	F	P
Regressão	1	6640924	6640924	1769,00	0,000
Erro	13	48803	3754		
Total	14	6689727			

A Tabela 18 apresenta as equações da reta e os valores dos coeficientes de correlação (r) obtido na avaliação da linearidade dos elementos em estudo.

Tabela 18. Avaliação da linearidade dos elementos em estudo.

Elementos	Equação da reta	Coefficiente de correlação (r)
Arsênio	$y = 34,35 x + 14,22$	0,9998
Mercúrio	$y = 139,2 x + 46,82$	0,9997
Cádmio	$y = 20,80 x + 10,85$	0,9998
Cromo	$y = 50,99 x + 93,78$	0,9999
Chumbo	$y = 5,199 x + 1,28$	0,9995

De acordo com os resultados dos coeficientes de correlação, as inspeções visuais dos resíduos e as análises de variância obtidos com o estudo da linearidade para As, Cd, Cr, Hg e Pb, podemos concluir que o modelo linear é adequado para a faixa de trabalho escolhida, com nível de 95% de confiança.

4.3.2. Seletividade

A seletividade é o parâmetro que avalia se o método é capaz de quantificar o analito na presença da matriz, ou material que pode causar interferência. Um método que consegue produzir respostas para vários analitos, e consegue distinguir a resposta de cada um deles, é chamado seletivo (INMETRO, 2017; MAPA, 2015).

A avaliação da seletividade pode ser realizada de diversas formas, a mais comum é a avaliação do efeito de matriz devido a matriz da amostra conter componentes que possam interferir no desempenho da medição. Esta avaliação pode ser realizada de duas maneiras: a) em matriz sem a presença do analito: deve-se preparar dois grupos de amostras de teste, um com a matriz e o outro sem, ambos com concentração idêntica do analito em cada nível de concentração de interesse. Com os resultados observados deve-se realizar teste de hipóteses (Teste *t* (*Student*) e Teste *F*) e avaliar se a matriz não afeta o sinal e a precisão do analito nos níveis de concentrações estudados; b) matriz sem o analito não disponível: deve-se preparar duas curvas analíticas que contenham a mesma adição de analito para cada nível de concentração, uma curva deve ser preparada com a adição de analito na matriz da amostra e a outra curva analítica não inclui a matriz, somente solução-padrão, com os resultados observados deve-se comparar as inclinações (coeficientes angulares) das curvas analíticas. Se as inclinações dessas duas curvas

de regressão linear não diferirem significativamente, não há efeito de matriz, o que pode ser observado graficamente pelo paralelismo aproximado das duas curvas.

A seletividade dos métodos desenvolvidos foi comprovada pelo teste de avaliação do efeito de matriz, conforme resultados apresentados nas Tabelas 9 e 11. De acordo com a razão entre os coeficientes angulares, foi possível comprovar que os métodos são seletivos, não sofrendo variações significativas na presença da matriz.

4.3.3. Exatidão

A exatidão de um método analítico representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (Brasil, 2003). Existem diversos modos para se avaliar a exatidão de um método, entre eles o uso de materiais de referência certificados (CRM), comparação entre métodos (método oficial e o método a ser validado), e ensaios de recuperação, pela fortificação de amostras com quantidades conhecidas do analito (*spike*) (INMETRO, 2017).

A exatidão é sempre considerada dentro de certos limites, a um dado nível de confiança, que geralmente são mais estreitos em níveis de concentração elevados e mais amplos em níveis de traços (Ribani *et al.*, 2004).

O material de referência certificado SRM 695[®] foi preparado conforme procedimento de preparo de amostras em triplicata. Os resultados foram avaliados entre si, foram calculados o desvio padrão e a média. Para o cálculo de porcentagem de recuperação, erro relativo e intervalo de confiança foi utilizada a média entre as três replicatas em comparação ao valor do certificado (Tabela 19).

Tabela 19. Resultados do material de referência certificado SRM 695®

Elementos	Valor Certificado	Valor encontrado	IC*	Erro relativo (%)	Recuperação (%)
As (mg kg ⁻¹)	200 ± 5	192,7 ± 3,5	± 8,7	-4	96
Cd (mg kg ⁻¹)	16,9 ± 0,2	16,7 ± 0,4	± 1,0	-1	99
Cr (mg kg ⁻¹)	244 ± 6	215,7 ± 4,0	± 10,0	-12	88
Hg (mg kg ⁻¹)	1,955 ± 0,036	1,8 ± 0,03	± 0,1	-9	91
Pb (mg kg ⁻¹)	273 ± 17	257,7 ± 5,7	± 14,1	-6	94

* IC = Intervalo de confiança

Os erros relativos foram de -1 a -12%, ou seja, menor que 20%, conforme critério de aceitabilidade estabelecido. O teste *t* de hipótese apresentou valor de *p* maior que 0,05 (nível de significância), portanto, o método apresenta com boa exatidão.

4.3.4. Precisão (repetibilidade)

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra (Brasil, 2003). As três maneiras mais comuns de expressá-la são por meio da repetibilidade, precisão intermediária e da reprodutibilidade, sendo usualmente expressas pelo desvio padrão e coeficiente de variação (também conhecido como desvio padrão relativo).

A repetibilidade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de medição, mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento usado sob as mesmas condições, mesmo local, e repetições em um curto intervalo de tempo. As

repetições devem ser independentes e variar entre 6 e 15 por material usado no estudo. É recomendado o estudo de ao menos dois níveis diferentes de concentração, se não for possível, pode-se adotar duas amostras com distintas concentrações do analito.

A repetibilidade do método foi avaliada com o uso de duas amostras de fertilizante mineral com teores diferentes. Os resultados das replicadas da amostra 15A/17 foram avaliados. Foram calculados o coeficiente de variação e o DPR máximo pela equação de Horwitz, para avaliação dos resultados (Tabela 20).

Tabela 20. Resultados da repetibilidade para a amostra 15A/17.

Replicatas	As (mg kg ⁻¹)	Cd (mg kg ⁻¹)	Cr (mg kg ⁻¹)	Hg (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)
R 1	16,6	15,2	124	1,2	1099
R 2	18,0	16,1	105	1,3	1104
R 3	17,2	14,5	118	0,9	1132
R 4	16,4	15,5	109	1,4	1069
R 5	17,5	14,8	118	1,2	1156
R 6	18,3	16,0	115	1,3	1133
R 7	16,0	14,9	110	1,0	1142
R 8	17,7	14,4	108	1,1	1074
Média	17,2	15,2	113,4	1,2	1114
DP	0,8	0,6	6,9	0,2	30,9
CV (%)	4,4	4,2	6,0	14,7	2,8
Horwitz* (%)	10,4	10,6	7,8	15,4	5,6

* Equação de Horwitz

De acordo com resultados observados, todos os coeficientes de variação obtidos com as determinações na amostra de fertilizante mineral 15A/17 apresentaram valores menores que os DPRs calculados pela equação de Horwitz.

O teste de repetibilidade também foi realizado com a amostra de MRC003, com teores diferentes de cada analito. Foram realizados os cálculos de coeficiente de variação e DPR pela equação de Horwitz para cada elemento determinado (Tabela 21).

Tabela 21. Resultados da repetibilidade para a amostra MRC003.

Replicatas	As (mg kg ⁻¹)	Cd (mg kg ⁻¹)	Cr (mg kg ⁻¹)	Hg (µg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)
R 1	130	112	68	768	2214
R 2	142	98	72	686	2136
R 3	135	105	79	897	2107
R 4	125	95	69	824	2298
R 5	136	99	74	790	2189
R 6	126	106	78	732	2247
R 7	123	110	65	755	2124
R 8	131	102	63	829	2175
Média	131,0	103,4	71,0	785,1	2186
DP	6,5	6,3	4,5	73,4	70,5
CV (%)	5,0	6,1	6,4	9,4	3,2
Horwitz* (%)	7,7	8,0	8,4	16,6	5,0

* Equação de Horwitz

Os coeficientes de variação obtidos pela repetibilidade da amostra MRC003 apresentaram valores menores que o DPR calculado pela equação de Horwitz, ou

seja, os resultados obtidos com as duas amostras testadas cumprem o critério de aceitabilidade estabelecido pelo Manual da Garantia da Qualidade (MAPA, 2015).

4.3.5. Precisão intermediária

A precisão intermediária refere-se à precisão avaliada sob condições que compreendem o mesmo procedimento de medição, mesmo local e medições repetidas da mesma amostra, com algumas mudanças: diferentes dias, ou diferentes analistas, ou diferentes equipamentos ou uma combinação destes fatores. É recomendado ao menos 15 repetições por material usado no estudo. Esta medida de precisão representa a variabilidade dos resultados obtidos em um mesmo laboratório.

Para avaliação da precisão intermediária foi realizado um segundo estudo de repetibilidade com as mesmas amostras de fertilizante mineral, em 8 replicatas cada, após uma semana. Foram considerados os resultados do primeiro estudo de repetibilidade para avaliação dos coeficientes de variação, DPR pela equação de Horwitz. Foi realizado teste F de hipótese para avaliação da igualdade entre as variâncias.

4.3.5.1. Avaliação da amostra de fertilizante mineral 15A/17

A Tabela 22 apresenta os resultados obtidos com a amostra 15A/17.

Tabela 22. Resultados da precisão intermediária para a amostra 15A/17.

Replicatas	As (mg kg ⁻¹)	Cd (mg kg ⁻¹)	Cr (mg kg ⁻¹)	Hg (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)
R 1	15,8	14,9	104	1,0	1078
R 2	17,2	15,8	120	1,3	1189
R 3	18,2	15,2	113	1,2	1145
R 4	16,0	16,2	108	0,9	1098
R 5	16,8	14,7	115	1,3	1185
R 6	16,5	16,2	123	1,1	1064
R 7	17,8	16,0	110	1,2	1172
R 8	16,7	14,1	117	1,3	1134
Média	17,0	15,4	114,3	1,2	1121,0
DP	0,8	0,6	6,7	0,2	42,5
CV (%)	4,9	4,0	5,9	14,1	3,8
Horwitz*	10,4	10,6	7,8	15,6	5,6

* Equação de Horwitz

As Figuras 27 a 31 a seguir apresentam os resultados do teste *F* entre duas variâncias realizado pelo software Minitab® para a determinação de As, Cd, Cr, Hg e Pb, o valor esperado de *p* deve ser $\geq 0,05$ (nível de significância) para que as variâncias sejam consideradas iguais, os intervalos entre as determinações devem se sobrepor.

Figura 27. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de As na amostra 15A/17.

Figura 28. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Cd na amostra 15A/17.

Figura 29. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Cr na amostra 15A/17.

Figura 30. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Hg na amostra 15A/17.

Figura 31. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Pb na amostra 15A/17.

O teste F para todas as determinações na amostra 15A/17 resultou em valor de p maior que 0,05 e os intervalos entre os dois dias apresentados nos gráficos estão sobrepostos, ou seja, não apresentam diferenças significativas entre eles (ao nível de 95% de confiança).

4.3.5.2. Avaliação da amostra de fertilizante mineral MRC003

A Tabela 23 apresenta os resultados obtidos para as determinações realizadas na amostra MRC003.

Tabela 23. Resultados da precisão intermediária para a amostra MRC003.

Replicatas	As (mg L ⁻¹)	Cd (mg L ⁻¹)	Cr (mg L ⁻¹)	Hg (mg L ⁻¹)	Pb (mg L ⁻¹)
R 1	136	109	70	881	2089
R 2	117	98	78	810	2274
R 3	124	111	69	789	2107
R 4	139	108	71	744	2284
R 5	134	102	70	694	2125
R 6	126	95	75	728	2220
R 7	122	89	62	838	2209
R 8	141	106	66	688	2157
Média	129,9	102,3	70,1	771,5	2183
DP	8,4	6,5	3,5	66,9	87,0
CV (%)	6,5	6,4	5,1	8,7	4,0
Horwitz*	7,7	8,0	8,4	16,6	5,0

* Equação de Horwitz

Assim como na avaliação da amostra 15A/17, um teste de hipótese para verificar se as variâncias são semelhantes também foi realizado para a amostra MRC003. As Figuras 32 a 36 a seguir apresentam os resultados do teste *F* entre duas variâncias realizado pelo software Minitab® para a determinação de As, Cd, Cr, Hg e Pb.

Figura 32. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de As na amostra MRC003.

Figura 33. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Cd na amostra MRC003.

Figura 34. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Cr na amostra MRC003.

Figura 35. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Hg na amostra MRC003.

Figura 36. Teste de hipótese entre variâncias para determinação de Pb na amostra MRC003.

De acordo com os resultados do teste F para as determinações na amostra MRC003, o valor de p obtido nas determinações foi maior que 0,05 (nível de significância) e os intervalos ficaram sobrepostos nos gráficos apresentados. Deste modo, a precisão intermediária atendeu aos critérios de aceitabilidade e foi comprovada que as variâncias obtidas nos dois estudos de repetibilidade não apresentam diferenças significativas entre elas (ao nível de 95% de confiança).

4.3.6. Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ) de um procedimento analítico é a menor quantidade do analito na amostra que pode ser quantitativamente determinada com precisão e exatidão aceitáveis (ICH, 2005; INMETRO, 2017). Na prática, o LQ corresponde normalmente ao padrão de menor concentração utilizado na curva de calibração (MAPA, 2015; INMETRO, 2017). Existem diversos modos de se calcular o

LQ, entre eles destacam-se: a) relação sinal/ruído: pode ser aplicado em procedimentos analíticos que apresentem ruído de linha de base; b) estimativa a partir da curva de calibração: o LQ pode ser estimado considerando-se 10 vezes o desvio padrão da resposta do branco e o coeficiente de inclinação da curva analítica; c) estimativa pelo desvio padrão do branco da amostra: considera-se a média dos valores dos brancos da amostra mais 10 vezes o desvio padrão amostral dos brancos da amostra, e somente é válido quando os valores dos brancos apresentarem um desvio padrão amostral diferente de zero.

Para calcular os limites de detecção e quantificação dos métodos desenvolvidos foram realizadas 10 determinações da solução de branco analítico HCl 1 mol L⁻¹ para determinação de As e Hg, e 10 determinações da solução de branco analítico 1% HNO₃ (v v⁻¹) para determinações de Cd, Cr e Pb. A partir das leituras, foram calculados os desvios padrões entre as determinações, este valor foi dividido pelo coeficiente angular da curva de calibração de cada elemento. Também foi realizado o cálculo para determinação do limite de quantificação na amostra, considerando a diluição empregada no método em estudo (Tabela 24).

Tabela 24. Limites de detecção e quantificação determinados para o MIP OES.

Elementos	LD (µg L ⁻¹)*	LQ (µg L ⁻¹)**	LQ (mg kg ⁻¹ ***)
Arsênio	0,9	3,1	1,2
Cádmio	1,4	4,7	1,9
Cromo	0,5	1,7	0,7
Mercúrio	0,5	1,8	0,7
Chumbo	1,7	5,8	2,3

* $3.SD_{\text{branco}}/b$

** $10.SD_{\text{branco}}/b$

*** $LQ.diluição_{\text{amostra}}$

De acordo com os limites de quantificação observados, os valores encontrados demonstraram boa sensibilidade para os elementos de interesse. O limite de quantificação calculado para a amostra demonstra que apenas o mercúrio não atende ao limite máximo permitido pela legislação, necessitando de adição de padrão durante as determinações.

4.4. Estabilidade da solução amostra

Para o estudo de estabilidade da solução amostra, foi utilizada a amostra de material de referência certificado SRM 695[®] preparada para avaliação da exatidão. A amostra foi armazenada em tubo Falcon de 50 mL em temperatura ambiente. As leituras foram realizadas após 1, 2, 4 e 7 dias e os resultados obtidos foram avaliados (Tabela 25).

Tabela 25. Resultados de estabilidade do material de referência certificado SRM 695[®]

Elementos	Tempo (dias)				Média	DP*	DPR%
	1	2	4	7			
As (mg L ⁻¹)	195	189	187	192	190,8	3,5	1,8
Cd (mg L ⁻¹)	216	219	221	211	216,8	4,3	1,7
Cr (mg L ⁻¹)	16,5	16,8	15,7	16,2	16,3	0,5	2,5
Hg (mg L ⁻¹)	1,72	1,80	1,88	1,82	1,8	0,1	1,9
Pb (mg L ⁻¹)	255	251	250	262	254,5	5,4	2,2

*Desvio Padrão (n=4)

De acordo com o desvio padrão relativo observado entre as medidas da solução amostra realizadas até 7 dias após seu preparo, foi possível concluir que a solução da amostra apresentou estabilidade, não comprometendo a confiabilidade

dos resultados obtidos com os métodos propostos, mesmo quando as determinações não ocorrem imediatamente após o preparo.

4.5. Comparação entre os métodos propostos e os métodos oficiais

Para a comparação, foi utilizado o material de referência certificado SRM 695[®]. As determinações de cádmio, cromo e chumbo foram realizadas de acordo com o Manual de Métodos Analíticos para Fertilizantes (MAPA), com digestão em chapa de aquecimento e determinação em F AAS. Para comparação dos resultados obtidos nas determinações de arsênio e mercúrio, foi realizado um ensaio colaborativo em parceria com o LANAGRO –GO, com o uso de espectrometria de absorção atômica com acessório de geração de vapor (VGA-AAS) para determinação de As por geração de hidretos e analisador de mercúrio por combustão (DMA) para determinação de Hg por decomposição térmica da amostra. Os resultados obtidos com o uso dos métodos oficiais estão apresentados na Tabela 26.

Tabela 26. Resultados obtidos com o uso dos métodos oficiais do MAPA e LANAGRO-GO.

Elementos	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média ± DP
As (mg L ⁻¹)	205	209	191	201,7 ± 9,5
Hg (mg L ⁻¹)	1,987	1,799	1,828	1,9 ± 0,10
Cd (mg L ⁻¹)	16,7	17,2	16,9	16,9 ± 0,3
Cr (mg L ⁻¹)	226	229	219	224,7 ± 5,1
Pb (mg L ⁻¹)	269	261	258	262,7 ± 5,7

Os resultados obtidos com o uso dos métodos oficiais foram avaliados e comparados aos resultados obtidos com os métodos desenvolvidos (Tabela 27). Foi realizado teste t de hipótese, pelo software Minitab®, para avaliar se os resultados podem ser considerados iguais.

Tabela 27. Comparação entre os métodos oficiais e os métodos em estudo.

Método	As (mg kg ⁻¹)	Hg (mg kg ⁻¹)	Cd (mg kg ⁻¹)	Cr (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)
Estudo	192,7 ± 3,5	1,8 ± 0,03	16,7 ± 0,4	215,7 ± 4,0	257,7 ± 5,7
Oficial	201,7 ± 9,5	1,9 ± 0,10	16,9 ± 0,3	224,7 ± 5,1	262,7 ± 5,7
Valor de ρ *	0,262	0,238	0,412	0,097	0,342

* Teste t de hipótese

Com base nos resultados obtidos pelo valor de ρ , maiores que 0,05 (nível de significância), a hipótese nula deve ser aceita, de que os valores são estatisticamente iguais (ao nível de 95% de confiança).

5. CONCLUSÕES

De acordo com os testes realizados para desenvolvimento e otimização do método para determinações simultâneas de As e Hg por geração de hidreto e vapor, foi possível concluir que não houve necessidade do uso do iodeto de potássio para promover a pré-redução do As. O teste de hipótese comprovou, com 95% de confiança, que não houve diferença significativa entre os resultados observados nas determinações de As(V) e As(III).

O preparo de amostras em banho maria, com uso de HCl concentrado, se mostrou adequado para as determinações de As e Hg, não sendo observadas perdas dos analitos. O preparo de amostras em chapa de aquecimento, com uso de água régia para digestão das amostras para determinações de Cd, Cr e Pb também se mostrou adequado, de acordo com os resultados obtidos com uso de CRM. Não foram observadas interferências provenientes da matriz nas determinações realizadas com o uso dos métodos desenvolvidos.

De acordo com o processo de validação dos métodos, as faixas de trabalho se mostraram adequadas para as determinações de As, Cd, Cr, Hg e Pb, apresentando boa linearidade com aplicação do modelo linear. No teste de exatidão, de acordo com os resultados obtidos com as determinações de As, Cd, Cr, Hg e Pb no CRM de fertilizante mineral SRM[®] 695, foi possível concluir que os métodos apresentaram resultados dentro do critério estabelecido pelo MAPA, os erros relativos foram de -1 a -12%, ou seja, menor que 20%. No teste de precisão (repetibilidade) e precisão intermediária, observou-se que as variações estão de acordo com a aceitabilidade para estas concentrações e ocorrem independente dos dias de análise, ou seja, as variações ocorridas em diferentes dias são as mesmas,

com 95% de confiança (Teste F). Foi realizado teste para avaliar a estabilidade da solução amostra, e foi possível concluir que a amostra apresenta estabilidade de pelo menos uma semana, em temperatura ambiente, apresentando resultados com confiabilidade. Os métodos desenvolvidos foram aplicados nas determinações de sete amostras de fertilizante mineral, e de acordo com os resultados observados, os valores foram muito próximos aos valores certificados. Os métodos desenvolvidos foram comparados aos métodos oficiais e, segundo o teste t de hipótese, não houve diferenças significativas entre os resultados observados, com nível de confiança de 95%.

Conforme os resultados obtidos durante as determinações e os testes realizados durante o processo da validação dos métodos, foi possível concluir que os métodos desenvolvidos são adequados aos fins que se propõem, porém é necessário que sejam aplicados na rotina do laboratório para controle de qualidade com cautela, uma vez que a complexidade dos fertilizantes minerais pode variar e exigir diferentes estratégias para se obter resultados com segurança e confiabilidade.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, L. G. R.; FIOROTO, A. M.; PAIXÃO, T. R. L. C.; OLIVEIRA, P. V. Evaluation of Multi-Mixtures of Acids for the Sample Preparation of Organic Soil Amendments for Multi-Element Determination by ICP OES. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, n. 18, p. 2210-2217, 2017.

ANDA. Investimentos no Brasil. 2011. Disponível em: <<http://www.anda.org.br/multimidia/investimentos.pdf>>. Acesso em: 12 de maio de 2018.

ATSDR Toxic Substances Portal. 2018. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxchemicallisting.asp?sysid=29>>. Acesso em 12 de maio de 2018.

BAIKA, L. M.; SANTOS, E. J. Dos; HERRMANN, A. B.; GRASSI, M. T. Analytical Methods Analytical Methods Simultaneous Determination of As, Hg, Sb, and Se in Mineral Fertilizers using ultrasonic extraction and CVG-ICP OES. **Analytical Methods**, n. 8, p. 1–224, 2016.

BORGES, D. L. G.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. **Revista Analytica**, n. 18, p. 58-67, 2005.

BORGES, A. R.; BECKER, E. M.; LEQUEUX, C.; VALE, M. G. R.; FERREIRA, S. L. C.; WELZ, B. Method development for the determination of cadmium in fertilizer samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption

spectrometry and slurry sampling. **Spectrochimica Acta Part B**, n. 66, p. 529–535, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa SDA nº 27 de 05 de junho de 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa SDA nº 24 de 21 de junho de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Garantia da Qualidade Analítica: Áreas de Identidade e Qualidade de Alimentos e de Insumos. Brasília, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos. Brasília, 2017.

CHEN, M.; WU, L.; YI, X.; YANG, K.; XIE, H. Tellurium speciation in a bioleaching solution by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Analytical Methods**, n. 9, p. 3061-3066, 2017.

CONAB. Safra de grãos volta a nível histórico com produção de 232 milhões de toneladas. 2018. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/index.php/ultimas-noticias/2359-safra-de-graos-volta-a-nivel-historico-com-producao-de-232-milhoes-de-toneladas> >. Acesso em: 12 de maio de 2018.

CUELLO, S.; ENTWISLE, J.; BENNING, J.; LIU, C.; COBURN, S.; MCADAM, K. G.; BRAYBROOK, J.; GOENAGA-INFANTE, H. Complementary HPLC-ICP-MS and

synchrotron X-ray absorption spectroscopy for speciation analysis of chromium in tobacco samples. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 31, n. 9, p. 1695-1940, 2016.

DIAS, V. P.; FERNANDES, E. Fertilizantes: Uma Visão Global Sintética. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 24, p. 97-138, 2006.

EURACHEM Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2014.

FIOROTO, A. M. **Avaliação da mobilidade e bioacessibilidade de As, Cd, Cr e Pb em fertilizantes minerais**. 2017. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

GONÇALVES, D. A.; MCSWEENEY, T.; SANTOS, M. C.; JONES, B. T. Standard dilution analysis of beverages by microwave-induced plasma optical emissionspectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 909 (2016) 24-29.

GONZÁLES, A. G; HERRADOR, M. A. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 227 – 238, 2007.

GROTTI, M; LAGOMARSINO, C.; MAGI, E. Simultaneous determination of arsenic, selenium and Mercury in foodstuffs by chemical vapour generation inductively coupled plasma optical emission spectroscopy. **Annali di chimica**, v. 96, n. 11-12, p. 751-764, 2006.

HUANG, F. F.; JIANG, S. J.; CHEN, Y. L.; SAHAYAMD, A. C. Chemical vapor generation sample introduction for the determination of As, Cd, Sb, Hg, and Pb in nail

polish by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, n. 140, p. 84–88, 2018.

ICH: Valitation of Analytical Procedures: Text and Methodology. 2005.

INMETRO. DOQ-CGCRE-008: Orientação sobre validação de métodos analíticos. 2017.

IPNI. Estatísticas. 2018. Disponível em: <<http://brasil.ipni.net/topic/profile>>. Acesso em 12 de maio de 2018.

JANKOWSKI, K.; RESZKE, E. Recent developments in instrumentation of microwave plasma sources for optical emission and mass spectrometry: Tutorial review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, n. 28, p. 1196-1212, 2013.

JIA, X.; GONG, D.; ZHAO, J.; REN, H.; WANG, J.; ZHANG, X. Zwitterion-functionalized polymer microspheres as a sorbent for solid phase extraction of trace levels of V(V), Cr (III), As(III), Sn (IV), Sb (III) and Hg (II) prior to their determination by ICP-MS. **Microchimica Acta**, (2018) 185 - 228.

KARLSSON, S.; SJÖBERG, V.; OGAR, A. Comparison of MP AES and ICP-MS for principal and selected trace elements in nitric acid digests of sunflower (*Helianthus annuus*). **Talanta**, 135 (2015) 124-132.

KELMER, G. A. R. **Propostas de métodos para determinações de As, Cd, Cr(III), Cr(VI), Hg, Ni, Pb e Se em fertilizantes minerais por AAS e ICP OES**. 2016. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo.

KRUG, F.J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. 2016.

LI, W.; SIMMONS, P.; SHRADER, D.; HERRMAN, T. J.; DAI, S. Y. Microwave plasma-atomic emission spectroscopy as a tool for the determination of copper, iron, manganese and zinc in animal feed and fertilizer. **Talanta**, 112 (2013) 43-48.

LIMA, A. F. **Desenvolvimento de métodos para o preparo de amostras de fertilizantes visando a determinação de cobre, cádmio e chumbo por espectrometria de absorção atômica com chama**. 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia.

LIMA, A. F.; COSTA, M. C.; FERREIRA, D. C.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. 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**, n. 118, p. 40-44, 2015.

LIMA, A. F., LIMA, F. F., RICHTER, E. M., MUNOZ, R. A. A. Combination of sonication and heating for metal extraction from inorganic fertilizers prior to microwave-induced plasma spectrometry determinations. **Applied Acoustics**, 103 (2016) 124-128.

MACEDO, S. M.; DE JESUS, R. M.; GARCIA, K. S.; HATJE, V.; DE S. QUEIROZ, A. F.; FERREIRA, S. L. C. Determination of total arsenic and arsenic (III) in phosphate fertilizers and phosphate rocks by HG-AAS after multivariate optimization based on Box-Behnken design. **Talanta**, n. 80, p. 974–979, 2009.

MACHADO, R. C. **Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de arsênio em fertilizantes minerais**. 2014. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos.

MACHADO, R. C.; VIRGILIO, A.; AMARAL, C. D. B.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. R. Evaluation of Inductively Coupled Plasma Tandem Mass Spectrometry for Determination of As in Agricultural Inputs with High REE Contents. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 11, p. 2076-2081, 2016.

MACHADO, R. C.; AMARAL, C. D. B.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Multielemental Determination of As, Bi, Ge, Sb, and Sn in Agricultural Samples Using Hydride Generation Coupled to Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 65, p. 4839-4842, 2017.

MACHADO, R. C. **Potencialidades das técnicas com fonte de plasma e da espectrometria de absorção atômica em forno de grafite de alta resolução com fonte contínua para análise de fertilizantes**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos.

MATUSIEWICZ, H.; SLACHCINSKI, M. Pressurized flow solubilization system using electromagnetic induction heating technique for simultaneous determination of inorganic elements (Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Pb, Sr, Zn) in sonicate slurries of biological material by microwave induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27 n. 3, p. 584-590, 2016.

MERMET, J. M.; POUSSEL, E. ICP Emission Spectrometers 1995 Analytical Figures Of Merit. **Applied Spectroscopy**, v. 49, n. 10, p. A12-A18, 1995.

MEURER, E. J. **Fundamentos de Química do Solo**. 3. ed. Porto Alegre: Evangraf, 2006.

NEHER, B. D.; AZCARATE, S. M.; CAMINA, J. M.; SAVIO, M. Nutritional analysis of spirulina dietary supplements: optimization procedure of ultrasound-assisted digestion for multielemental determination. **Food Chemistry**, n. 257, p. 295-301, 2018.

NIEDZIELSKI, P.; KOZAK, L.; WACHELKA, M.; JAKUBOWSKI, K.; WYBIERALSKA, J., The microwave induced plasma with optical emission spectrometry (MIP OES) in 23 elements determination in geological samples. **Talanta**, 132 (2015) 591-599.

NIEDZIELSKI, P. et al. Microwave induced plasma optical emission spectrometry in agricultural analysis. **Plant Soil Environment**, v. 62, n. 5, p. 215-221, 2016.

NOVAES, C. G.; BEZERRA, M.A.; SILVA, E.G.P.; SANTOS, A.M. P.; ROMÃO, A.M.S, NETO, J.H.S. A review of multivariate designs applied to the optimization of methods based on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). **Microchemical Journal**, 128 (2016) 331-346.

OVIEDO, J. A.; JESUS, A. M. D.; FIALHO, L. L.; PEREIRA FILHO, E. R. Avaliação da combinação da nebulização discreta e processos de microextração aplicados à determinação de molibdênio por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). *Química Nova*, v. 37, n. 2, p. 249-254, 2014.

OZBEK, N.; AKMAN, S. Method development for the determination of calcium, copper, magnesium, manganese, iron, potassium, phosphorus and zinc in different types of breads by microwave induced plasma-atomic emission spectrometry. **Food Chemistry**, 200 (2016) 245-248.

OZBEK, N.; KOCA, M.; AKMAN, S. A practical method for the determination of Al, B, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb, and Zn in different types of vinegars by microwave

induced plasma optical emission spectrometry. **Food Analytical Methods**, (2016) 9:2246-2250.

PEREZ, J. J. M. **Emissões de mercúrio proveniente da queima de floresta tropical na região de Rio Branco (AC, Brasil)**. 2013. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas.

RIBANI, M., BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p 771-780, 2004.

RIOS, S. E. G.; PENUELA, G. A.; BOTERO, C. M. R. Method validation for the determination of mercury, cadmium, lead, arsenic, copper, iron and zinc in fish through microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES). **Food Anal. Methods**. (2017) n.13, p.3407-3414.

RODELLA, A. A. Regulation of contaminant contents in fertilizers: a case study. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 5, p. 797-807, 2005.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

SKOOG, D. A. et al. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

SOUZA, S. O.; COSTA, S. S. L.; SANTOS, D. M.; PINTO, J. S.; GARCIA, C. A. B.; ALVES, J. P. H.; ARAUJO, R. G. O. Simultaneous determination of macronutrients, micronutrients and trace elements in mineral fertilizers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, n. 96, p. 1-7, 2014.

TAKASE, I.; PEREIRA, H. B.; LUNA, A. S.; GRINBERG, P.; CAMPO, R. C. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova**, v. 25, n. 6b, p. 1132-1144, 2002.

TANABE, C. K. Total arsenic analysis in Californian wines with hydride generation – microwave plasma – atomic emission spectroscopy (HG-MP-AES). **Jornal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 31, n. 6, p. 1163-1320, junho de 2016.

USEPA 3050B. Acid digestion of sediments, sludges, and soils. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC USA 1996.

USEPA 3051. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC USA 1996.

VALDERRAMA, M.; BUZETTI, S.; BENETT, C. G. S.; ANDREOTTI, M.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Fontes e doses de NPK em milho irrigado sob plantio direto. **Pesq. Agropec. Trop.**, v. 41, n. 2, p. 254-263, 2011.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**, 3ª ed., VCH, Weinheim, 1999.

YANG, W.; BOLES, R. L.; MAWHINNEY, T. P. Determination of Phosphorus in Fertilizers by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1241-1246, 2002.

ZEINER, M.; CINDRIC, I. J. Review - trace determination of potentially toxic elements in (medicinal) plant materials. **Analytical Methods**, n. 9, p. 1550-1574, 2017.

ZHAO, Y.; LI, Z.; ROSS, A.; HUANG, Z.; CHANG, W.; OU-VANG, K.; CHEN, Y.; WU, C. Determination of heavy metals in leather and fur by microwave plasma-atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 112 (2015) 6-9.

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Tatiana Valéria Furquim

Local e data de nascimento: Jandaia do Sul, Paraná, 09 de julho de 1988.

EDUCAÇÃO

- Centro de Pós-Graduação e Pesquisa Oswaldo Cruz, São Paulo - SP, 2015.
Especialização em Análise Instrumental Avançada.
- Instituto Manchester Paulista de Ensino Superior, Sorocaba - SP, 2011.
Bacharelado em Química.
- Etec Rubens de Faria e Souza, Sorocaba - SP, 2006.
Técnico em Alimentos.

EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL

- Pesquisadora Júnior, Produquímica Indústria e Comércio S.A., janeiro/2016 a atual data.
- Analista de Pesquisa & Desenvolvimento Pleno, Prati Donaduzzi Medicamentos Genéricos Ltda, setembro/2014 a novembro/2015.
- Analista de Laboratório Júnior, BRF S.A., agosto/2012 a dezembro/2013.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR (MINICURSOS)

- Interpretação da norma NBR/IEC 17025:2017 – Requisitos para acreditação pela Cgcre do INMETRO, incluindo normas da Cgcre obrigatórias (NIT-DICLA, NIE CGCRE) e documentos de orientação (DOQ-CGCRE) e estudos de casos para entendimento dos requisitos da nova norma (16 horas).
Remesp, São Paulo - SP, 2018.
- Curso do software Minitab® – Estatística básica e aplicada, tratamento de dados e delineamento de experimentos (32 horas).
Fundação Vanzolini, São Paulo - SP, 2018.
- AQAC - Ciclo de Qualidade Analítica: Conceitos de validação para a estimativa de incerteza e cartas de controle (16 horas).
TZF Consultoria Analítica, Campinas - SP, 2017.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS

- User Meeting – Encontro de usuários do MP AES. 2018.
- V Workshop do Programa de Mestrado Profissional em Tecnologia em Química e Bioquímica do Instituto de Química da USP. 2017.
- User Meeting – Encontro de usuários do MP AES. 2017.
- XI Workshop sobre Preparo de Amostras. 2016.
- IV Workshop do Programa de Mestrado Profissional em Tecnologia em Química e Bioquímica do Instituto de Química da USP. 2016.