



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRAUAÇÃO EM QUÍMICA



**Desenvolvimento de métodos analíticos para
especiação de As(III) e As total e determinação
de Cd, Cr e Pb em fertilizantes fosfatados
utilizando espectrometria de absorção atômica e
extração assistida por ultrassom**

Doutoranda: Hélen Cristine de Rezende

Orientadora: Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRAUAÇÃO EM QUÍMICA



**Desenvolvimento de métodos analíticos para
especiação de As(III) e As total e determinação
de Cd, Cr e Pb em fertilizantes fosfatados
utilizando espectrometria de absorção atômica e
extração assistida por ultrassom**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação do
Instituto de Química da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito para obtenção do título de
Doutor em Química, com ênfase em Química Analítica.

Doutoranda: Hélen Cristine de Rezende

Orientadora: Profa. Dra. Nívia Maria Melo Coelho

Área de concentração: Química Analítica

Uberlândia, 2014



**Ata da defesa de TESE DE DOUTORADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química,
do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE TESE DE DOUTORADO EM QUÍMICA, NÚMERO 28/PPQUI.**

DATA: 24/02/2014

DISCENTE: Hélen Cristine de Rezende

MATRÍCULA: 11013QMI003

TÍTULO DO TRABALHO: Desenvolvimento de metodologias analíticas para análise de Cd, Cr e Pb por GF AAS e As total e As(III) por HG AAS em fertilizantes fosfatados.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Estratégias para determinação de elementos traço em alimentos por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.

Às treze horas e trinta minutos do dia vinte e quatro de fevereiro do ano dois mil e quatorze, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Bloco 5I, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Valfredo Azevedo Lemos, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e José Bento Borba da Silva, da Universidade Federal de Minas Gerais; Sebastião de Paula Eiras e Waldomiro Borges Neto, do Instituto de Química da UFU e Nívia Maria Melo Coelho, orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Regulamentar nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e A provou o(a) candidato(o). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

"Desenvolvimento de métodos analíticos para especificação de As(III) e As total e determinação de Cd, Cr e Pb em fertilizantes fosfatados utilizando espectrometria de absorção atômica e extração assistida por ultrassom"

Esta defesa de Tese de Doutorado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 55 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Valredo Azevedo Lemos
Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos – UESB

José Bento Borba da Silva
Prof. Dr. José Bento Borba da Silva – UFMG

Waldomiro Borges Neto
Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto – IQUFU

Sebastião de Paula Eiras
Prof. Dr. Sebastião de Paula Eiras – IQUFU

Nívia M. M. Coelho
Prof. Dr. Nívia Maria Melo Coelho – IQUFU

Porque Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas.

A Ele pois a glória, eternamente.

(Romanos 11:36)

Agradecimentos

À Deus, que é razão e o sentido de tudo, por me conceder graça, força e sabedoria para realização deste trabalho!!!

À minha mãe, Nílma, pelo amor, dedicação e incentivo durante toda essa caminhada.

À minha irmã, Aline e a toda minha família pelo carinho e apoio em cada fase da minha vida.

À minha orientadora Profª. Dra. Nívia Maria Melo Coelho, agradeço a oportunidade concedida, confiança, amizade e paciência durante todo esse período, e por contribuir para o meu crescimento profissional desde a iniciação científica. Muito obrigada!..

Aos amigos do Laboratório de Espectroscopia Aplicada - LEA, Maria Soledad, Thais, Sângela, Fernanda, Danielle, Simone e Vanessa pela agradável convivência durante esse período. Em especial gostaria de agradecer a Ione e Eliézer, pelo afeto, amizade e incentivo!!!

À amiga Cleide Sandra pelos conselhos e pela torcida !!!

Ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia pela oportunidade concedida.

Aos membros da Comissão Examinadora deste trabalho, pelas valiosas críticas e sugestões.

A Capes, Fapemig e CNPq pelo apoio financeiro.

A todas as pessoas que de alguma forma colaboraram na execução deste trabalho.

Muito obrigada!..

Resumo

Neste estudo foram desenvolvidas metodologias para determinação de metais contaminantes em fertilizantes fosfatados. Para determinação das espécies de arsênio inorgânico foi empregada a Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (HG AAS) e na determinação de Cd, Cr e Pb foi utilizada a Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS).

Para determinação do arsênico inorgânico as variáveis que podem afetar a etapa de geração de hidretos foram otimizadas de forma univariada. A determinação do As(III) foi realizada por meio de simples controle do pH com uma solução tampão de ácido cítrico/citrato 0,5 mol L⁻¹ em pH 4,5 e arsênio total foi determinado depois da reação de pré-redução com tiouréia 1,0 % (m/v). Já na determinação dos contaminantes Cd, Cr e Pb que foram determinados por GF AAS os programas de temperatura foram otimizados no sentido de alcançar uma maior eficiência analítica e consistiu no estudo de triagem dos modificadores permanentes, temperatura de pirólise e de atomização. A extração ácida assistida por ultrassom foi utilizada no preparo das amostras e os parâmetros tempo de sonicação, concentração e tipo de extrator foram otimizados de forma multivariada. Os limites de quantificação foram de 0,097 µg kg⁻¹ para As(III), 0,074 µg kg⁻¹ para As total e de 0,11, 0,90 e 0,63 µg L⁻¹, para Cd, Pb e Cr, respectivamente. A precisão foi expressa em D.P.R.(%) obtendo-se valores menores do que 5%. A exatidão do método foi avaliada pela análise do material certificado NIST SRM 695, os valores obtidos não apresentaram diferença significativa a um nível de 95% de confiança com os valores certificados. O método foi aplicado na análise de fertilizantes fosfatados comercializados no país e os níveis encontrados foram abaixo dos valores máximos estabelecidos pela legislação brasileira.

Palavras-chave: fertilizantes fosfatados, extração assistida por ultrassom, HG AAS, GF AAS

Abstract

In this study, methodologies for determination of contaminant metals in phosphate fertilizers were developed. For determination of inorganic arsenic species was employed Atomic Absorption Spectrometry with Hydride Generation (HG AAS) and Cd, Cr and Pb were determinate by Atomic Absorption Spectrometry with Graphite Furnace (GF AAS).

In the determination of inorganic arsenic the variables which affect the hydride generation step were optimized using univariate analysis. The determination of As(III) was performed through the simple control of solution pH with a 0.5 mol L⁻¹ citric acid/sodium citrate buffer solution at pH 4.5 and total arsenic is determined after a pre-reduction reaction with 1.0% w/v thiourea. Cadmium, lead and chromium were determined by GF AAS and the temperature programs were optimized in order to achieve greater analytical efficiency and the study consisted of a screening of permanent modifiers, pyrolysis and atomization temperature. Ultrasound-assisted acid extraction was performed to prepare the samples and parameters sonication time, concentration and type of extractor were optimized using multivariate experiments. Limits of quantification were 0.097 µg Kg⁻¹ for As (III), 0.074 µg Kg⁻¹ for As Total and 0.11, 0.63 and 0.90 µg L⁻¹ for Cd, Cr and Pb, respectively. Precision was expressed as RSD (%), and was less than 5 % and the accuracy of the method was evaluated by analysis of certified material NIST SRM 695, no significant difference at a level of 95 % with the certified values, were observed. The method was applied in the analysis of phosphate fertilizers produced in the Brazil and the levels found were below the maximum values established by Brazilian legislation.

Keywords : phosphate fertilizers, ultrasonic assisted extraction, HG AAS, GF AAS

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas	xi
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xvi
I. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
II.1. Fertilizantes Fosfatados	4
II.2. Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos	8
II.3. Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite	10
II.4. Extração assistida por ultrassom	12
II.5. Estratégias de otimização	16
II.5.1. Planejamentos fatoriais	17
II.5.2. Metodologia de superfície de resposta - CCD	17
II.5.3. Função deseabilidade	18
Capítulo 1. Desenvolvimento de uma metodologia para determinação de As(III) e As total em fertilizantes fosfatados por extração assistida por ultrassom e espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto	21
1.1. INTRODUÇÃO	22
1.2. OBJETIVOS	24
1.3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	25
1.3.1. Instrumentação e acessórios	25
1.3.2. Reagentes e soluções	26
1.3.3. Amostras	27
1.3.4. Otimização das variáveis do sistema de geração de hidretos	27
1.3.5. Espéciação de arsênio inorgânico	28
1.3.5.1. Determinação de As(III).....	28
1.3.5.2. Determinação de arsênio total.....	28
1.3.6. Estudo de Interferentes	28
1.3.7. Procedimento de Extração	29
1.3.7.1. Otimização do procedimento de extração	29
1.3.8. Figuras de Mérito	30
1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32

1.4.1. Otimização das variáveis do sistema de geração de hidretos	32
1.4.1.1. Otimização da concentração do redutor	32
1.4.1.2. Otimização da concentração do ácido	33
1.4.1.3. Otimização das vazões da amostra, do redutor e do ácido	33
1.4.2. Especiação de arsênio inorgânico	36
1.4.2.1. Determinação de As(III)	36
1.4.2.2. Determinação As total	39
1.4.3. Estudo de Interferentes	44
1.4.4. Otimização do procedimento de extração	45
1.4.5. Figuras de Mérito	50
1.4.6. Exatidão e Aplicação do Método	51
1.5. CONCLUSÃO	54
Capítulo 2. Desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação de chumbo, cádmio e cromo em fertilizantes fosfatados empregando espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.....	55
2.1. INTRODUÇÃO	56
2.2. OBJETIVOS	58
2.3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	59
2.3.1. Instrumentação e acessórios	59
2.3.2. Reagentes, soluções e amostras	59
2.3.3. Tratamento dos tubos de grafite	60
2.3.4. Otimização das condições de análise	61
2.3.4.1. Triagem dos modificadores	61
2.3.4.2. Otimização dos programas de temperatura.....	62
2.3.5. Efeito de Matriz	64
2.3.6. Procedimento de extração	64
2.3.6.1. Otimização do procedimento de extração	64
2.3.7. Características analíticas do método proposto	65
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
2.4.1. Otimização do método para a determinação de Cd, Pb e Cr.....	68
2.4.1.1. Otimização do programa de temperatura na determinação de Cd.....	68
2.4.1.2. Otimização do programa de temperatura na determinação de Pb.....	73
2.4.1.3. Otimização do programa de temperatura na determinação de Cr.....	77

2.4.2. Efeito de Matriz	83
2.4.3. Otimização do procedimento de extração	86
2.4.4. Características analíticas e aplicação do método proposto.....	91
2.4. CONCLUSÃO	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
APÊNDICE.....	109
ANEXO.....	112

Lista de Abreviaturas e Siglas

ANDA	Associação Nacional para Difusão de Adubos
AFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica, do inglês, <i>Atomic Fluorescence Spectrometry</i>
As(III)	Arsenito
As(V)	Arsenato
CCD	Planejamento Composto Central, do inglês, <i>Central Composite Design</i>
CE	Eletroforese Capilar, do inglês, <i>Capillary Electrophoresis</i>
CG	Cromatografia Gasosa
CL	Cromatografia Líquida
CS	Fonte Contínua, do inglês, <i>Continuous Source</i>
CT HG AAS	Aprisionamento Criogênico Acoplado a Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidreto, do inglês, <i>Criogenic Trapping Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>
DMA	Ácido Dimetilarsínico, do inglês, <i>Dimethylarsinic Acid</i>
DPR	Desvio Padrão Relativo
EA	Espectrometria Atômica
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite, do inglês, <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
HG	Geração de Hidretos, do inglês, <i>Hydride Generation</i>
HG AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidreto, do inglês, <i>Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>
HR	Alta Resolução, do inglês, <i>High Resolution</i>
ICP MS	Espectrometria de Massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
IFA	Associação Internacional das Indústrias de Fertilizantes, do inglês <i>International Fertilizer Industry Association</i>
LD	Límite de Detecção
LQ	Límite de Quantificação
MMA	Ácido Monometilarsônico, do inglês, <i>Monomethylarsonic Acid</i>
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, do inglês, <i>National Institute of Standards and Technology</i>

Standards and Technology

NPK	Designa a relação dos três nutrientes principais para as plantas (nitrogênio, fósforo e potássio)
rpm	Rotações por Minuto
RSU	Resíduo sólido urbano
SRM	Material de Referência Padrão, do inglês, <i>Standard Reference Materials</i>
TMA	Íon Tetrametilarsônio
TA	Temperatura de Atomização
TP	Temperatura de Pirólise
US	Ultrassom
VGA	Acessório de Geração de Vapor, do inglês, <i>Vapor Generation Accessory</i>

Lista de Figuras

Figura I.1	Consumo mundial de fertilizantes entre os anos de 1950 - 2011	2
Figura I.2	Produção mundial de fertilizantes fosfatados em 2011	3
Figura 1.1	Representação esquemática do sistema de geração de hidretos	25
Figura 1.2	Estudo da concentração de NaBH ₄ na determinação de As(III). Condições: HCl 8% (v/v), vazão da amostra 7,5 mL min ⁻¹ , vazão do ácido e do redutor 1,0 mL min ⁻¹ . As(III) 5 µg L ⁻¹	32
Figura 1.3	Estudo da concentração de HCl na determinação de As(III). Condições: NaBH ₄ 0,4% (m/v), vazão da amostra 7,5 mL min ⁻¹ , vazão do ácido e do redutor 1,0 mL min ⁻¹ . As(III) 5 µg L ⁻¹	33
Figura 1.4	Estudo da vazão da amostra na determinação de As(III). Condições: NaBH ₄ 0,4% (m/v), HCl 10,0% (v/v), vazão do ácido e do redutor 1,0 mL min ⁻¹ . As(III) 5 µg L ⁻¹	34
Figura 1.5	Estudo da vazão do ácido na determinação de As(III). Condições: NaBH ₄ 0,4% (m/v), HCl 10,0% (v/v), vazão da amostra 6,0 mL min ⁻¹ , vazão do redutor 1,0 mL min ⁻¹ . As(III) 5 µg L ⁻¹	34
Figura 1.6	Estudo da vazão do redutor na determinação de As(III). Condições: NaBH ₄ 0,4% (m/v), HCl 10,0% (v/v), vazão da amostra 6,0 mL min ⁻¹ , vazão do ácido 1,5 mL min ⁻¹ . As(III) 5 µg L ⁻¹	35
Figura 1.7	Curvas analíticas de As(III), As(V) e As(III)/As(V). Condições: NaBH ₄ 0,4% (m/v), HCl 10,0% (v/v), vazão da amostra 6,0 mL min ⁻¹ , vazão do ácido e do redutor 1,5 mL min ⁻¹	36
Figura 1.8	Estudo do pH da solução tampão citrato/ácido cítrico. Concentração do tampão 0,5 mol L ⁻¹	38
Figura 1.9	Estudo da concentração do tampão citrato/ácido cítrico. pH Tampão 4,5.....	39
Figura 1.10	Curvas analíticas de calibração ● As(III) ■ As(III)/ 5 µg L ⁻¹ de As(V), meio diluente tampão.....	39
Figura 1.11	Estudo da concentração de cloridrato de hidroxilamina na redução do As(V). Condições: As(III) e As(V) 5 µg L ⁻¹	40

Figura 1.12	Estudo da concentração de L-cisteína na redução do As(V). Condições: As(III) e As(V) 5 $\mu\text{g L}^{-1}$	41
Figura 1.13	Estudo da concentração de tiossulfato de sódio na redução do As(V). Condições: As(III) e As(V) 5 $\mu\text{g L}^{-1}$	42
Figura 1.14	Estudo da concentração de tiouréia na redução do As(V). Condições: As(III) e As(V) 5 $\mu\text{g L}^{-1}$	42
Figura 1.15	Curvas analíticas de calibração ● As(III) ■ As(V), meio diluente tiouréia 1% (m/v).....	43
Figura 1.16	Gráfico de Pareto gerado no planejamento fatorial 2^3	47
Figura 1.17	Superfície de resposta obtida no planejamento composto central, a) HNO_3 x Triton X-114, b) HNO_3 x Tempo de Sonicação e c) Tempo de de Sonicação x Triton X-114.....	49
Figura 1.18	Teste de preservação das espécies de As(III) e As(V).....	50
Figura 2.1	Perfil típico do sinal obtido nas análises por GF AAS.....	62
Figura 2.2	Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial na determinação de Cd.....	70
Figura 2.3	Curva de pirólise obtida para determinação de Cd por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TA 1800°C.....	71
Figura 2.4	Curva de atomização obtida para determinação de Cd por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TP 250°C.....	72
Figura 2.5	Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial na determinação de Pb.....	75
Figura 2.6	Curva de pirólise obtida para determinação de Pb por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TA 2500°C.....	75
Figura 2.7	Curva de atomização obtida para determinação de Pb por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TP 400°C.....	76
Figura 2.8	Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial na determinação de Cr.....	79
Figura 2.9	Superfície de resposta obtida na otimização final das temperaturas de pirólise e atomização, para determinação de Pb.....	81
Figura 2.10	Curva de pirólise obtida para determinação de Cr por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TA 2600°C.....	82

Figura 2.11	Curva de atomização obtida para determinação de Cr por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TP 300°C.....	83
Figura 2.12	Curvas de calibração em meio aquoso e por ajuste de matriz, para determinação de Cd em fertilizante fosfatado por GF AAS.....	84
Figura 2.13	Curvas de calibração em meio aquoso e por ajuste de matriz, para determinação de Cr em fertilizante fosfatado por GF AAS.....	84
Figura 2.14	Curvas de calibração em meio aquoso e por ajuste de matriz, para determinação de Pb em fertilizante fosfatado por GF AAS.....	85
Figura 2.15	Perfis dos valores previstos e de deseabilidade.....	89
Figura 2.16	Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis sobre a extração de Cd, Pb e Cr utilizando deseabilidade global como resposta analítica.....	90

Lista de Tabelas

Tabela I.1	Consumo de fertilizantes por região (em 1.000 toneladas métricas)	2
Tabela II.1	Limites máximos de metais pesados tóxicos admitidos em fertilizantes minerais que contenham o nutriente fósforo	5
Tabela II.2	Metodologias para especiação de As, Se e Sb e detecção por HG AAS .	11
Tabela II.3	Trabalhos que empregaram a modificação química permanente.....	13
Tabela 1.1	Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de arsênio	26
Tabela 1.2	Variáveis e níveis estudados no planejamento fatorial 2^3	30
Tabela 1.3	Variáveis e níveis estudados no planejamento composto central.....	30
Tabela 1.4	Variáveis otimizadas para geração de hidretos	36
Tabela 1.5	Condições otimizadas para determinação de As (III) e As (total)	43
Tabela 1.6	Estudo de íons interferentes na determinação de As total	44
Tabela 1.7	Resultados obtidos para planejamento fatorial 2^3	46
Tabela 1.8	Planejamento composto central para otimização das condições experimentais para o procedimento de extração	48
Tabela 1.9	Figuras de mérito do método otimizado para determinação de arsênio inorgânico em fertilizantes fosfatados por HG AAS	51
Tabela 1.10	Avaliação da exatidão do método, empregando material certificado SRM695.....	51
Tabela 1.11	Aplicação do método proposto para determinação de As(III) e As(V) em fertilizantes fosfatados.....	52
Tabela 2.1	Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de Cd, Cr e Pb.....	59
Tabela 2.2	Programa de temperatura do GF AAS utilizado para tratamento da plataforma de L'vov com modificadores permanentes.....	61
Tabela 2.3	Programa de temperatura recomendado pelo fabricante na análise de soluções aquosas de Cd, Pb e Cr.....	62
Tabela 2.4	Níveis estudados no planejamento fatorial 2^3	63
Tabela 2.5	Matriz do Planejamento Fatorial 2^3 com ponto central	65
Tabela 2.6	Estudo dos modificadores na determinação de Cd em fertilizantes fosfatados por GF AAS.....	69

Tabela 2.7	Resultados obtidos para o planejamento fatorial 2^3 para determinação de Cd.....	69
Tabela 2.8	Programa de temperatura otimizado na determinação de Cd em fertilizantes fosfatados utilizando tubo modificado com paládio.....	72
Tabela 2.9	Estudo dos modificadores na determinação de Pb em fertilizantes fosfatados por GF AAS.....	73
Tabela 2.10	Resultados obtidos para o planejamento fatorial 2^3 para determinação de Pb.....	74
Tabela 2.11	Programa de temperatura otimizado na determinação de Pb em fertilizantes fosfatados utilizando tubo modificado com nióbio.....	77
Tabela 2.12	Estudo dos modificadores na determinação de Cr em fertilizantes fosfatados por GF AAS.....	77
Tabela 2.13	Resultados obtidos para o planejamento fatorial 2^3 para determinação de Cr.....	78
Tabela 2.14	Resultados obtidos para o planejamento composto central na otimização da determinação de Cr.....	80
Tabela 2.15	Programa de temperatura otimizado na determinação de Cr em fertilizantes fosfatados utilizando tubo modificado com paládio.....	81
Tabela 2.16	Valores dos parâmetros F e t para as curvas analíticas obtidas no estudo do efeito de matriz.....	86
Tabela 2.17	Resultados obtidos para o planejamento fatorial 2^3 com ponto central na extração de Cd, Pb e Cr de fertilizantes fosfatados.....	86
Tabela 2.18	Desejabilidades individuais e global obtidas pela aplicação das funções de desejabilidade.....	87
Tabela 2.19	Figuras de mérito do método otimizado para determinação de Cd, Cr e Pb em fertilizantes fosfatados por GF AAS.....	92
Tabela 2.20	Avaliação da exatidão do método, empregando material certificado SRM695 e por comparação entre o método proposto de extração com o método de digestão em bloco digestor.....	92
Tabela 2.21	Teores de Cd, Pb e Cr em fertilizantes fosfatados, obtidos pelo método proposto.....	93

I. INTRODUÇÃO GERAL

A produção agrícola mundial tem crescido a cada ano e pode ser atribuído ao surgimento de novas tecnologias e técnicas de plantio. Dentro deste contexto, o uso de fertilizantes assume lugar de destaque, sendo responsável pelo aumento da produtividade de diversas culturas.

Os fertilizantes estão definidos na legislação brasileira, conforme Decreto nº 86.955, de 18 de fevereiro de 1982, como “substâncias minerais ou orgânicas, naturais ou sintéticas, fornecedoras de um ou mais nutrientes das plantas”. A sua aplicação nos solos possibilita manter a capacidade produtiva dos mesmos ou até aumentar, uma vez que repõem os nutrientes retirados do solo a cada ciclo de colheita.

As plantas necessitam de substâncias essenciais para o seu desenvolvimento como macronutrientes: nitrogênio, fósforo, enxofre, cálcio, magnésio e potássio; e micronutrientes: boro, cobalto, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco (OLIVEIRA *et al.*, 2010; TREVIZAN *et al.*, 2009; WATSON *et al.*, 2012). Alguns destes elementos estão fartamente disponíveis no meio ambiente e são diretamente assimiláveis pelas plantas, entretanto outros elementos não estão abundantemente disponíveis nos solos ou o processo de adsorção pelas plantas é muito lento (YU-KUI *et al.*, 2012). A ausência destes nutrientes causa prejuízo no crescimento e no desenvolvimento da planta, desta forma com a finalidade de suprir as deficiências em substâncias vitais, os fertilizantes são utilizados na agricultura, pois fornecem nutrientes essenciais para o desenvolvimento dos vegetais.

Com o crescente consumo de fertilizantes no mundo, houve também uma impulsão na produção por unidade de área, aumentando a oferta total de alimentos, bem como contribuindo para a qualidade dos alimentos e seu conteúdo de microminerais essenciais. Entre 1961 e 2008, a população mundial cresceu de 3,1 para 6,8 bilhões. No mesmo período, a produção de cereais mundial cresceu de 900 para 2.500 Mt, com grande parte do crescimento devido ao aumento no uso de fertilizantes no mundo como pode ser observado pela Figura I.1, em que é demonstrado o crescimento no consumo mundial de fertilizantes entre os anos de 1950 a 2011 (BRUULSEMA *et al.*, 2012).

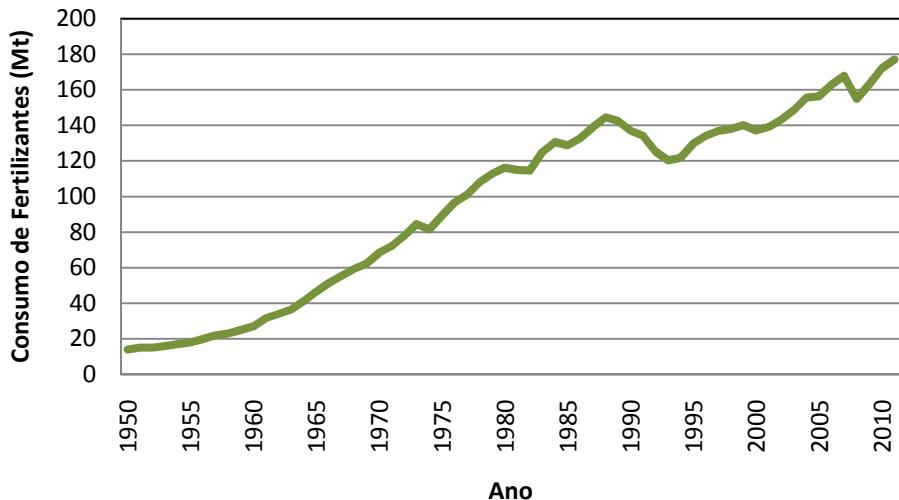


Figura I.1. Consumo mundial de fertilizantes entre os anos de 1950 - 2011.

O consumo de fertilizantes segundo a Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA) no Brasil em 2011 foi de 28.326.257 (em 1.000 toneladas métricas), apresentando um aumento aproximadamente de 15% em relação ao consumo no ano de 2010. A Tabela I.1 apresenta o consumo de fertilizantes no Brasil por região nos anos de 2008 a 2011.

Tabela I.1. Consumo de fertilizantes por região (em 1.000 toneladas métricas)

Região	Anos			
	2008	2009	2010	2011
Centro	16.550.194	15.988.083	17.514.568	20.687.121
Nordeste	2.420.769	2.585.882	3.001.801	3.314.381
Norte	233.398	248.464	274.152	366.397
Sul	3.201.567	3.648.392	3.725.668	3.958.358
Brasil	22.405.928	22.470.821	24.516.189	28.326.257

Fonte: ANDA/ www.anda.org.br.

Os fertilizantes são divididos em duas classes, os orgânicos e os minerais podendo ainda ser classificados quanto aos nutrientes que o constituem como fósforo, nitrogênio e potássio. Os fertilizantes fosfatados são utilizados para suprir a deficiência de fósforo que é

essencial para o desenvolvimento vegetal, contribuindo no processo de fotossíntese, respiração, divisão celular e crescimento de células (MA *et al.*, 2009). A produção de fertilizantes fosfatados em 2011 foi de aproximadamente 59 milhões de toneladas, com domínio da China, responsável por 37% da produção mundial, como pode ser observado pela Figura I.2.

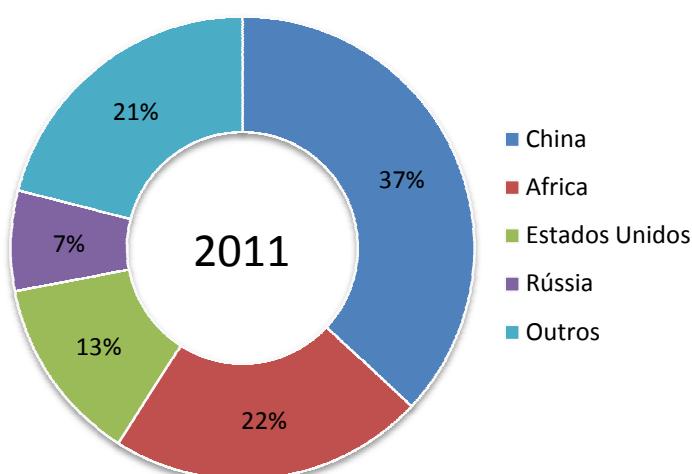


Figura I.2. Produção mundial de fertilizantes fosfatados em 2011.

Fonte: IFA: International Fertilizer Industry Association/ www.fertilizer.org

A matéria-prima para a obtenção desses produtos são as rochas fosfatadas, que apresentam em sua composição além do fósforo, diversos contaminantes como arsênio, mercúrio, chumbo, cromo e cádmio (AYDIN *et al.*, 2010; HARTLEY, *et al.*, 2013; JIAO, *et al.*, 2012). As concentrações destes metais são variadas, dependendo da rocha da qual o fertilizante foi obtido. Como são utilizadas na agricultura sucessivas adubações, esses metais podem se acumular no solo, tornando-se disponíveis para absorção pelas plantas e consequentemente entrar na cadeia alimentar humana (WU *et al.*, 2012).

A remoção destes elementos no processo de produção ou no produto final do fertilizante não é economicamente viável, desta forma faz-se necessário realizar o controle da concentração destes elementos presentes nos fertilizantes, que têm sido diretamente aplicados no solo (SABIHA-JAVIED *et al.*, 2009; NACKE *et al.*, 2013).

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1. Fertilizantes Fosfatados

Com o crescimento da população mundial, tem crescido também a demanda em relação à produção de alimentos e essa alta demanda de alimentos, por sua vez tem motivado a pesquisa em fertilidade do solo e a busca de inovações científicas e tecnológicas que permitam aumentar a produtividade agrícola.

Entre os insumos agrícolas, estão os fertilizantes e corretivos que influenciam diretamente no balanço de nutrientes do solo. O estudo prévio do solo antes da aplicação desses insumos é primordial para garantir a disponibilidade correta dos nutrientes para as plantas, além disso, a acidez do solo deve ser controlada, que, se excessiva, prejudica a absorção dos nutrientes pelas plantas e aumenta os custos da fertilização (XU *et al.*, 2014).

Os fertilizantes fosfatados constituem um dos principais insumos agrícolas e têm como fonte de matéria-prima as rochas fosfáticas que são utilizadas industrialmente na produção de ácido fosfórico e vários tipos de fertilizantes fosfatados em todo o mundo. No Brasil, a apatita é o principal mineral presente na maioria dos depósitos fosfáticos (OLIVEIRA *et al.*, 2011; TÓTH *et al.*, 2014).

Essas rochas possuem em sua composição além dos macronutrientes de interesse, contaminantes como As, Cd, Pb, Hg e Cr; que podem ocorrer naturalmente em sua composição (JESUS *et al.*, 2013). A aplicação no solo de fertilizantes contendo como contaminantes esses metais, representa motivo de preocupação uma vez que eles podem persistir no solo por vários anos, serem levados para os cursos de água, absorvidos pela plantas e, consequentemente serem transferidos para a cadeia alimentar humana.

A legislação brasileira através da Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980 e da Instrução Normativa nº 27, de 5 de junho de 2006, estabelece que os fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes, para serem produzidos, importados ou comercializados, deverão atender aos limites estabelecidos no que se refere às concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos, patogênicos ao homem, animais e plantas, metais pesados tóxicos, pragas e ervas daninhas. No anexo I da referida Instrução Normativa são estabelecidos os limites para os fertilizantes minerais simples que contenham P₂O₅ e não contenham micronutrientes, o valor máximo admitido do contaminante é obtido pela multiplicação do maior percentual de P₂O₅ garantido ou declarado pelo valor presente na Tabela II.1.

Tabela II.1. Limites máximos de metais pesados tóxicos admitidos em fertilizantes minerais que contenham o nutriente fósforo.

Metal	Valor admitido por % de P ₂ O ₅ (mg kg ⁻¹)
Arsênio	2,0
Cádmio	4,0
Chumbo	20,0
Cromo	40,0
Mercúrio	0,05

Para adequação dos fertilizantes produzidos no Brasil, dentro dos limites estabelecidos pela norma, a ANDA, mantém um Programa Interlaboratorial de Metodologia de Análise de Fertilizantes, com objetivo básico, de uniformizar e aferir as análises realizadas pelos laboratórios que servem de apoio aos sistemas de controle de qualidade da produção nas empresas. Ele consiste na distribuição de amostras homogêneas de fertilizantes aos laboratórios das empresas, que as analisam e remetem os resultados à ANDA, para serem estatisticamente avaliados (ANDA, 2014).

Diferentes metodologias tem sido desenvolvidas para determinação da concentração de metais em amostras de fertilizantes ou em solos em que foram aplicados tais fertilizantes. Um estudo realizado para avaliar a distribuição e a mobilidade de Cu, Cd, Zn e Pb em um solo vermelho típico do Mediterrâneo, onde durante 15 meses foram administrados fertilizantes fosfatados, constatou através da análise por Microscopia Eletrônica de Varredura acoplada a um Espectrômetro de Dispersão de raios X, picos de concentrações médias de 43,13 de Cu; 0,52 de Cd; 116,36 de Zn e 14,92 de Pb mg Kg⁻¹ (KASSIR *et al.*, 2012).

Carbonell e colaboradores (2011) avaliaram a acumulação de metais totais e disponíveis no solo e também a adsorção e a mobilidade destes para as diferentes partes da planta, através de um estudo em que sementes de milho foram expostas a um resíduo sólido urbano (RSU) e um fertilizante NPK. Os resultados mostraram que o composto de RSU aumentou a concentração de Cu, Pb e Zn no solo, enquanto o fertilizante NPK aumentou a concentração de Cd e Ni, e também causou uma redução na concentração de Hg no solo. O sistema radicular atuou provavelmente como uma barreira para o Cr, Ni, Pb e Hg, levando a uma absorção e mobilidade menores em partes aéreas das plantas. As maiores concentrações de

metais foram observadas nas raízes, mas não houve diferenças significativas entre as plantas que cresceram em solos tratados e em solos de controle. Foram encontradas diferenças nas concentrações de metais acumulados nas partes aéreas das plantas, ao passo que os níveis de metais nos grãos foram insignificantes em todos os tratamentos.

Amostras de rochas fosfáticas sedimentares usadas para a produção de fertilizantes na Turquia, foram avaliadas para determinação da concentração de Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn, assim como dos elementos terras raras, Ce, La e Th. As amostras foram digeridas em microondas e a determinação dos elementos de interesse foi realizada por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES). Os resultados obtidos revelaram que os teores de metais presentes nas rochas fosfáticas provenientes da Turquia foram baixos quando comparados com valores de concentração de metais em rochas fosfáticas provenientes de outros países, e que esses valores estavam dentro dos limites aceitáveis (AYDIN *et al.*, 2010).

Fertilizantes fosfatados comumente utilizados na Argentina foram analisados para determinar as concentrações de cromo, cádmio, cobre, níquel, zinco e chumbo. Através dos resultados pode ser identificado que as concentrações variaram consideravelmente e os níveis de Cd e Pb em alguns materiais analisados foram significativamente maiores em relação aos níveis naturalmente presentes nos solos (CAMELO *et al.*, 1997).

No trabalho proposto por Borges e colaboradores (2011), foi desenvolvido um método analítico para determinar Cd em amostras de fertilizantes por Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua em Forno de Grafite (HR-CS GF AAS) utilizando amostragem de suspensão. Neste trabalho foram avaliados, tanto o uso de modificadores clássicos (Pd - Mg), bem como o uso do Ir como modificador permanente. A concentração de cádmio nas amostras investigadas foi entre 0,07 e 5,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cd, e, portanto, inferior ao valor máximo de 20 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Cd permitido pela legislação brasileira.

O fosfogesso é um subproduto da indústria de fertilizantes fosfatados e alguns estudos tem sido realizados com a finalidade de avaliar a aplicabilidade deste na melhoria da fertilidade dos solos agrícolas. Para a sua aplicação segura, é necessário caracterizar as impurezas (metais e radionuclídeos) presente no fosfogesso e avaliar a sua disponibilidade para o meio ambiente. Desta forma, foram avaliadas a concentração total de radionuclídeos (^{226}Ra , ^{228}Ra e ^{210}Pb) e dos metais (As, Cd, Cr, Co, Cu, Hg, Ni, Pb, Se e Zn) em amostras brasileiras de fosfogesso, utilizando diferentes metodologias de preparo de amostras para avaliar a fração disponível destes elementos nas amostras. Os resultados obtidos através da

metodologia de lixiviação mostraram que os metais e radionuclídeos não estão disponíveis para o meio ambiente, dando provas de que a aplicação do fosfogesso na agricultura é segura. Além disso, os resultados obtidos nas amostras de fosfogesso para os metais As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb e Se, se mostraram abaixo da limites estabelecidos pela Agência Reguladora Brasileira (SAUAEIA *et al.*, 2013).

Roselli e colaboradores (2010) avaliaram a presença e a lixiviação de radionuclídeos que podem estar presentes naturalmente em fertilizantes fosfatados, como por exemplo ^{238}U , ^{210}Pb e ^{210}Po que são altamente tóxicos. O conhecimento da lixiviação destes componentes é importante para estimar qual é, eventualmente, a contribuição destes para a cadeia alimentar e outras vias de contaminação como água potável e águas subterrâneas. Um método de extração seqüencial composto por cinco etapas foi selecionado para simular condições ambientais extremas e uma ampla faixa de pH. Os resultados demonstraram que o urânio é facilmente lixiviado e que aproximadamente 75% é liberado nas 4 primeiras etapas, ou seja, condições que favorecem a redução, oxidação ou alterações de pH podem permitir que uma fração deste radionuclídeo seja liberado para o meio ambiente. O ^{210}Pb foi encontrado quase totalmente na fração 5, indicando que está associado com as fases de minerais sendo solúvel apenas em condições de elevada acidez. De acordo com o que foi observado a solubilidade do ^{210}Po foi superior ao ^{210}Pb , mas inferior ao urânio e, que devido a baixa disponibilidade de chumbo e polônio a sua presença no ambiente não torna-se perigosa para a via de ingestão, mas somente por inalação dos materiais particulados.

Rochas fosfáticas utilizadas para a produção de fertilizantes no Paquistão foram analisadas para determinar a concentração de Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, Zn, considerados poluentes ambientais e de Co, K, Mg, Mn, Na, elementos comuns. Os resultados obtidos foram comparados com rochas fosfáticas de outros países, e mostraram que o conteúdo dos metais analisados foi menor no fosfato proveniente do Paquistão do que nas amostras importadas e estavam abaixo dos limites estabelecidos, com exceção do chumbo, cuja concentração encontrada foi mais elevada na rocha proveniente do Pasquistão (SABIHA-JAVIED *et al.*, 2009).

II.2. Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos

A propriedade que alguns elementos como As, Bi, Ge, Pb, Sb, Sn, Se e Te possuem de formarem hidretos voláteis à temperatura ambiente, possibilitou o desenvolvimento da técnica de Geração de Hidretos acoplada principalmente a Espectrometria de Absorção Atômica. Esse desenvolvimento permitiu um ganho de sensibilidade na determinação destes metais principalmente pela melhora na eficiência do transporte dos analitos ao atomizador e também a redução ou mesmo a eliminação de interferências, uma vez que apenas o analito forma a espécie volátil que é transportada para cela de atomização (HENDEN *et al.*, 2011).

Holak (1969) foi o precursor desta técnica com um trabalho em que o As foi reduzido à arsina pela adição de zinco metálico em uma amostra acidificada. A espécie volátil foi transportada para a chama a fim de ser atomizada com o auxílio de um gás de araste. Entretanto, o uso de redutores metálicos, possibilitava a geração de hidretos de poucos elementos e, além disso, os sinais para os brancos analíticos eram elevados, as medidas pouco reproduutíveis e altos tempos de reação eram requeridos, dificultando a automação.

A introdução de soluções de borohidreto de sódio (NaBH_4) estabilizadas em meio básico, como agente redutor ampliou a aplicação da técnica de geração de hidretos, uma vez que possibilitou a formação de hidretos de um número maior de elementos. A eficiência do NaBH_4 , na formação dos hidretos e a possibilidade de ser empregado tanto por sistemas em batelada quanto por sistemas em fluxo, visto sua rápida cinética de reação e maior reproduutibilidade, qualquer que seja o método de detecção, fez com ele se tornasse o agente redutor mais empregado na geração de hidreto (TAKASE *et al.*, 2002).

As variáveis químicas principais que são avaliadas na geração dos hidretos são concentração e tipo de ácido e a concentração do redutor (NaBH_4), elas interferem diretamente na sensibilidade do método (ANAWAR, 2012).

O mecanismo pelo qual ocorre a formação do hidreto a partir do NaBH_4 tem gerado discussões e ao longo dos anos foi aceito o mecanismo em que a formação do hidreto ocorria a partir da evolução de hidrogênio atômico, também chamado de hidrogênio nascente, formado através da hidrólise ácida do agente redutor (D'ULIVO, 2004).

Entretanto, em estudos recentes esse mecanismo foi refutado (LIU & LI, 2009; D'ULIVO *et al.*; 2006; PAGLIANO *et al.*, 2011), levando a rejeição definitiva da hipótese de “hidrogênio nascente” e a adoção de um modelo de reação com base na transferência direta do hidrogênio ligado ao boro para o elemento por meio da substância a ser analisada, através da

formação de complexos intermediários (D'ULIVO, 2010). Desta maneira o processo de formação de hidreto tem sido descrito conforme as equações 1 e 2.



Após a geração do hidreto, esse é transportado até o sistema de detecção, seja por transferência direta ou por processo de coleta. O modo de coleta consiste no aprisionamento da espécie volátil em frasco de reação, mantido sob pressão, em um tubo U imerso em nitrogênio líquido ou ainda em uma solução absorvente (TAKASE *et al.*, 2002).

No início do desenvolvimento da técnica de geração de hidretos, o modo de coleta foi comumente empregado, uma vez que a reação de formação do hidreto via redutor metálico era relativamente lenta, necessitando de algum tempo para que a reação se completasse. Atualmente, o modo de coleta vem sendo utilizado, principalmente com a finalidade de pré-concentrar a espécie de interesse, já que com a utilização do redutor NaBH₄ a reação de formação de hidretos ocorre de forma rápida, possibilitando a utilização de sistemas de análise em fluxo, compatíveis com a transferência direta do hidreto, simplificada pelo uso de reatores, separadores gás-líquido ou câmaras de nebulização (TAKASE *et al.*, 2002; CORREIA *et al.*, 2010).

O transporte do hidreto diretamente para uma chama de ar-acetileno foi realizado no início do desenvolvimento da técnica, entretanto a alta absorção de fundo e a baixa sensibilidade causada pela diluição do hidreto com os gases da chama foram um dos fatores para que a técnica não fosse bem aceita. Só a partir da utilização de tubos de quartzo como atomizadores foi que a técnica passou a ser extensivamente utilizada para diversos analitos e com diferentes configurações no procedimento da geração do hidreto (TAKASE *et al.*, 2002).

O atomizador de quartzo consiste de um tubo T, que é colocado sobre o queimador ou em outro suporte que permita o seu alinhamento no caminho ótico, o mesmo é aquecido externamente por uma chama de ar-acetileno ou através de uma manta resistora que o envolve. No canal presente na parte central do tubo ocorre a entrada do hidreto que é carreado por um gás inerte, para o interior da parte aquecida do tubo.

Os tubos podem apresentar configurações onde as duas saídas são simplesmente abertas, ou fechadas com janelas óticas. Se fechadas, é necessário que nos extremos haja duas pequenas aberturas para a saída dos gases. Se a saída for aberta pode ocorrer à queima de hidrogênio nas saídas do tubo, o que causaria ruídos. Para que isso seja evitado pode-se isolar as saídas com anéis de grafite, para forçar a perda de calor; deixar as extremidades do tubo sem aquecimento e isoladas ou ainda injetar um fluxo auxiliar de gás inerte nas entradas auxiliares. Em relação à FAAS a utilização destes atomizadores apresentam vantagens como maior precisão, devido a eliminação da absorção de fundo e melhores limites de detecção, uma vez que o tempo de residência da nuvem atômica no caminho ótico aumenta. (DÉDINA, 2007; FLORES *et al.*, 2009)

A geração química de vapor é compatível com diferentes técnicas de espectrometria atômica (AAS) (PRŮŠA *et al.*, 2013; GALAZZI & ARRUDA, 2013), fluorescência atômica (AFS) (CHEN & CHEN, 2014; WANG *et al.*, 2013), emissão ótica por plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (PEREIRA *et al.*, 2014; ILANDER & VÄISÄNEN, 2011), espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP MS) (YILMAZ *et al.*, 2013; HOSICK *et al.*, 2002). Entretanto, a espectrometria de absorção atômica com chama acoplada a geração de hidretos têm sido mais utilizada por se encontrar na maioria dos laboratórios, e tem sido aplicada para o desenvolvimento de metodologias que visam a especificação não cromatográficas de alguns elementos como As, Se e Sb, alguns destes métodos são apresentados na Tabela II.2.

II.3. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite

A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) é uma técnica utilizada na análise de elementos em baixas concentrações apresentando algumas vantagens em relação a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), principalmente em relação a sensibilidade, uma vez que são obtidos baixos limites de detecção e quantificação, em comparação aos valores obtidos utilizando FAAS (AZEVEDO *et al.*, 2013).

Tabela II.2. Metodologias para especiação de As, Se e Sb e detecção por HG AAS.

Espécies	Amostras	Preparação da	Método de	Referência
		Amostras	Separação	
MMA, DMA, TMA, As inorgânico	Alga	Extração Alcalina	Aprisionamento criogênico	GENG <i>et al.</i> , 2009
As(III), As(V)	Solo, Sedimento	Extração Aquosa	Redução Seletiva	DRAHOTA <i>et al.</i> , 2009
		Extração Ácida		
As(III), As(V)	Solo	Extração Sequencial	Redução Seletiva	KARAK <i>et al.</i> , 2011
Se(IV), Se(VI), Se orgânico	Sedimento	Extração Sequencial	Redução Seletiva	RYU <i>et al.</i> , 2011
Se(-II), Se (0), Se(IV), Se(VI), Se orgânico	Solo, Sedimento	Extração Sequencial	Redução Seletiva	FAN <i>et al.</i> , 2011
Se(-II), Se(IV), Se(VI)	Solo, Cinzas	Extração por uso de tampão	Redução Seletiva	MÉNDEZ <i>et al.</i> , 2004
Sb(III), Sb(V), Sb orgânico	Água	-	Redução Seletiva	ANDREAE <i>et al.</i> , 1981

A atomização ocorre através do aquecimento da amostra, que é inserida no interior do tubo de grafite, geralmente na faixa de 10 a 100 µL. Esse aquecimento segue um programa de temperatura específico para cada elemento e tipo de amostra, contendo geralmente as etapas de secagem onde ocorre a evaporação do solvente usado no preparo da amostra; pirólise que tem como objetivo a remoção dos elementos constituintes da matriz, diminuindo a possibilidade de interferência e reduzindo a magnitude do sinal de fundo; atomização onde ocorre a formação de átomos gasosos no estado fundamental no interior do tubo de grafite, absorvendo parte da radiação proveniente da fonte; limpeza que é realizada elevando a temperatura do tubo de grafite por um curto período de tempo, para eliminar qualquer resíduo que tenha permanecido no tubo e por fim a etapa de resfriamento que é realizada para a introdução de uma nova alíquota da amostra (FROES *et al.*, 2006).

A GF AAS fornece alta sensibilidade, seletividade e baixo consumo de amostras, entretanto, está sujeita a interferências principalmente por componentes constituinte da matriz, que não são eliminados totalmente na etapa de pirólise interferindo no processo de atomização. Visando superar essas interferências, foi proposto o uso de modificadores químicos, que tem a finalidade de influenciar os processos que ocorrem no atomizador ajudando estabilizar termicamente o analito na fase condensada enquanto os componentes da matriz são destruídos em temperaturas mais altas (TSALEV *et al.*, 2000).

Existem dois tipos de modificadores químicos, os convencionais que são adicionados conjuntamente com a amostra ou antes da adição da amostra. A mistura $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ é conhecida como “modificador universal”, por apresentar um bom desempenho para um número grande de elementos e os permanentes que são depositados no tubo de grafite a partir de um programa de temperatura adequado, e através deste tratamento o modificador é capaz de atuar por diversos ciclos de atomização sem perda de sua efetividade. (DOBROWOLSKI *et al.*, 2010; BIANCHIN *et al.*, 2006).

Em relação a modificação química clássica a modificação permanente apresenta algumas vantagens como, a utilização de reagentes de pureza moderada, a minimização do tempo total de análise e o aumento do tempo de vida útil do tubo de grafite (FRESCHI *et al.*, 2008). Alguns trabalhos recentes que utilizaram modificação química permanente somente ou em conjunto com a modificação química clássica estão apresentados na Tabela II.3.

II.4. Extração assistida por ultrassom

A preparação da amostra para análise de especiação requer grande cuidado, a fim de manter a integridade das espécies de interesse. Muitos fatores são importantes no processo de preparação da amostra, tais como o estado físico da amostra, o analito que será determinado e o tipo de detecção. Em geral, as análises de amostras sólidas são trabalhosas uma vez que a maioria dos métodos de detecção requerem que os analitos de interesse sejam transferidos para uma fase líquida.

Tabela II.3. Trabalhos que empregaram a modificação química permanente.

Modificador	Metal	Amostras	Preparo das Amostras	Referência
Ir/Nb Ir/W	Sb	Sedimentos	Suspensão	DOBROWOLSKI <i>et al.</i> , 2011
NbC Pd co-injeção	Si	Produtos petroquímicos	Emulsão	LUZ & OLIVEIRA, 2014
W Ir co-injeção	Cu Pb	Alcool combustível	Análise direta	SANTOS <i>et al.</i> , 2012
W/ Cu(NO ₃) ₂ co-injeção	Hg	Músculo de peixe	Extração ácida (H ₂ SO ₄ /H ₂ O ₂) - Ultrassom	MORAES <i>et al.</i> , 2013
Ir	As	Gasolina	Extração ácida	BECKER <i>et al.</i> , 2012
Ru	Pb Cd	Urina	Extração por ponto nuvem	MARANHÃO <i>et al.</i> , 2007
Ir/ Nb	V	Solos e sedimentos	Suspensão	DOBROWOLSKI <i>et al.</i> , 2013
Zr/ Ir	Pb Cd As Ni	Material atmosférico particulado	Extração ácida (HNO ₃ /HCl) - Ultrassom (50°C por 30 min)	PASIAS <i>et al.</i> , 2013
Nb Pd co-injeção	Pb	Batom	Solubilização alcalina	SOARES & NASCENTES, 2013
W Ti	Cd Pb	Mandioca	Suspensão	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2013

Neste contexto, a extração assistida por ultrassom vem recebendo grande atenção e sua aplicação para o preparo de amostras vem sendo extensivamente explorada, por se apresentar como uma técnica simples, rápida, segura e de baixo custo, capaz de promover a dissolução quantitativa dos elementos de interesse, e que, dependendo da matriz, possibilita recuperações que podem ser maiores do que quando se usam ácidos concentrados. Os procedimentos de

extração, quando comparados aos procedimentos de digestão por via úmida e via seca, estão menos sujeitos a problemas com brancos analíticos, apresentam menores perdas de elementos voláteis, e além disso minimizam, o manuseio das amostras, os fatores de diluição, custos devido aos baixos volumes de reagentes, o tempo de preparo e a geração de resíduos. Além disso, proporcionam maior segurança para o analista, uma vez que os procedimentos não empregam condições tão drásticas no preparo da amostra (WIETESKA *et al.*, 1996; PRIEGO-CAPOTE & CASTRO, 2007; CALLE *et al.*, 2011).

A irradiação ultrassônica atua no preparo das amostras através da extração sólido - líquido, ocasionada através de efeitos mecânicos e químicos. O principal efeito mecânico está baseado no fenômeno de cavitação acústica, que se trata da formação, crescimento e implosão de micro-bolhas de gás, o que resulta em pontos com gradientes extremamente altos de temperatura e pressão. Essas micro-bolhas entram em colapso e implodem, produzindo um jato líquido que pode atingir uma velocidade acima de 100 m/s. Com esse jato ocorre a liberação de grande quantidade de energia para a microrregião onde ocorreu a implosão. Este fenômeno, em que a cavitação ocorre próximo da superfície da partícula ou na própria superfície, promove a solubilidade do analito e difusão do solvente dentro das partículas sólidas. A superfície é renovada e, consequentemente, mais analito entra em contato com o solvente. Outros efeitos mecânicos, tais como o ablação e erosão, também pode ocorrer, entretanto em menor grau. O efeito químico do ultrassom melhora a reatividade de alguns produtos químicos, permitindo a ocorrência e também a aceleração de algumas reações envolvidas na digestão de amostras (GÜNGÖR & ELIK, 2007; CALLE *et al.*, 2009; ASHLEY, 2001).

Diferentes métodos de especiação não cromatográficas utilizando extração assistida por ultrassom tem sido desenvolvidos para a determinação de arsênio em diferentes amostras. Um método simples para a determinação de As(III) e As(V), em amostras de leite, utilizando Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Hidreto foi descrita por CAVA-MONTESINOS e colaboradores (2003). As amostras foram submetidas a extração ultrasônica, onde a 1,0 g de leite foi adicionado 2 ml de água régia e 0,5 ml de anti-espuma A. A mistura foi colocada em um banho de ultrassom durante 10 min. Uma dispersão homogênea alaranjada foi obtida, na qual foi adicionado 7,3 mL de HCl concentrado, seguido pela determinação direta dos hidretos, antes e depois da redução com KI. Os autores verificaram que, após a redução a adição de KI não alterou o sinal de As(III), mas o sinal de As(V) foi claramente aumentado.

Um método para a especiação de arsênio As(III), As (V), DMA e MMA em amostras de peixes e de mexilhão foi desenvolvido, em que a extração das espécies de arsênio foi alcançada através da sonicação das amostras por 20 minutos com HNO_3 3 mol L⁻¹ e Triton 0,1 % (m/v). O resíduo sólido foi lavado com EDTA 0,1 % (m/v), seguido pela determinação direta dos hidretos correspondentes em quatro condições experimentais diferentes por HG AAS. A metodologia proposta foi aplicada em materiais de referência e os resultados obtidos apresentaram boa concordância com os valores certificados (CAVA-MONTESINOS *et al.*, 2005). Reyes *et al.* (2007) propuseram também um método para determinar as mesmas espécies de arsênio em amostras de cereais, as quais foram submetidas a sonicação em temperatura ambiente durante 10 min com H_3PO_4 1 mol L⁻¹ na presença de Triton X - 114 0,1 % (m/v) e lavagem da fase sólida com EDTA 0,1 % (m/v). A partir do extrato obtido uma sub amostra foi preparada contendo 1 % (m/v) de KI e 0,2 % (m/v) de ácido ascórbico, seguido pela detecção. Na detecção foram utilizadas diferentes condições experimentais, entre meios ácidos e concentrações do redutor. Os mesmos autores aplicaram esse método para a determinação de As(III), As(V), DMA e MMA em amostras de vegetais (REYES *et al.*, 2008).

Gonzálvez e colaboradores (2009), com base no método relatado por Reyes (2008), realizaram a determinação de As inorgânico em amostras de cogumelos cultivados e silvestres de diferentes origens. As amostras foram submetidas a extração assistida por ultrassom durante 10 minutos com H_3PO_4 1 mol L⁻¹ e Triton X-100 0,1% (m/v). Para minimizar a formação de espuma, anti-espuma A, foi adicionado antes da sonicação. Após a separação de fases o resíduo foi lavado com 0,1% (m/v) de EDTA e centrifugado. A solução de lavagem foi misturada com a solução inicial previamente separada e a mistura foi utilizada para a análise. Uma alíquota do extrato final foi misturada com 8,75 ml de HCl concentrado e analisada por HG-AFS. Para a redução de As(V), 3 ml do extrato foi misturado com 0,6 ml de uma solução de uma mistura de KI 50% (m/v) e ácido ascórbico 10% (m/v) deixando-se reagir durante 30 min, antes da medição por HG-AFS. Em ambos os casos, foram utilizadas as condições experimentais estabelecidas na literatura (CAVA-MONTESINOS *et al.*, 2003).

Zhao e colaboradores (2006) desenvolveram um método para investigar a distribuição de espécies de arsênio em amostras de brotos de bambu de diferentes, áreas e períodos de crescimento. Espécies de arsênio foram determinadas nos solos da rizosfera de alguns brotos de bambu e em diferentes partes da planta. Para as amostras de tecido das plantas, 0,5 g de cada amostra foi transferida para um tubo de centrífuga e 10 mL de uma mistura de

H₂O/MeOH (1:1 v/v) foi adicionada. A extração foi efetuada em um banho de ultrassom durante 15 min. O extrato foi em seguida centrifugado e o sobrenadante foi recolhido. O procedimento de extração foi repetido três vezes. Os sobrenadantes foram combinados e concentrados (secos ao ar) para 20 mL, e em seguida foram analisados. Para as amostras de solo, 0,1 g (peso seco) de cada amostra foi pesada e o processo de extração descrito acima, foi realizado, com exceção da etapa de secagem em que a combinação dos sobrenadantes foi diluída para 100 mL. Os extratos das amostras foram analisados através de um sistema de geração de hidreto com aprisionamento criogênico acoplado a espectrometria de absorção atômica (CT HG AAS).

II.5. Estratégias de otimização

No desenvolvimento de metodologias analíticas, geralmente estão envolvidas muitas variáveis que dependendo do nível em que são utilizadas podem influenciar diretamente na sensibilidade do método e, consequentemente nos limites de detecção e quantificação dos mesmos. Desta forma é essencial a realização da otimização das variáveis de uma metodologia analítica, a fim de obter condições ótimas de análise.

As estratégias utilizadas para a otimização das variáveis dependem de vários fatores, como a natureza da resposta analítica, limitação do sistema, tipo de variáveis (qualitativas ou quantitativas), dentre outras.

A otimização mais utilizada no desenvolvimento de métodos analíticos é a otimização univariada. Neste tipo de otimização as variáveis são otimizadas separadamente, onde as variáveis são fixadas em um certo nível e a variável em estudo é variada em uma faixa determinada ou até que o melhor sinal analítico seja obtido. Os gráficos gerados são bidimensionais apresentando fácil interpretação. Entretanto, as principais desvantagens neste tipo de otimização são o número de experimentos necessários para realizar a otimização de um só fator, que aumenta consideravelmente com o aumento do número de fatores e a falta de informações acerca das interações entre a variável em estudo e as demais variáveis (BIANCHIN *et al.*, 2008; BEZERRA *et al.*, 2008).

Neste contexto, tem crescido o uso de ferramentas quimiométricas aplicadas a otimização de metodologias analíticas. Elas apresentam algumas vantagens em relação à otimização univariada, como redução do número de experimentos, resultando em menor

consumo de reagentes. As variáveis são otimizadas simultaneamente, fornecendo informações sobre o efeito que cada uma causa sobre a resposta analítica, bem como as suas interações e também permitem a otimização de sistemas que possuem multi-respostas (TARLEY *et al*, 2009).

II.5.1. Planejamentos fatoriais

O procedimento de otimização multivariada normalmente inicia-se com uma avaliação preliminar das variáveis do sistema, através do uso de planejamentos fatoriais. Nos planejamentos fatoriais normalmente são utilizados dois níveis, portanto se k variáveis serão avaliadas 2^k será o número de experimentos realizados. Os experimentos são delineados em uma matriz, onde são organizados de forma a contemplar todas as combinações entre os níveis e os fatores estudados. Convencionalmente os níveis são codificados em (-) para nível baixo e em (+) para nível alto (TEÓFILO & FERREIRA, 2006).

A partir dos resultados desses planejamentos, através do tratamento matemático é possível obter informações sobre como as variáveis afetam a resposta analítica e se as mesmas possuem interação entre si. Os planejamentos fatoriais por possuírem somente dois níveis indicam a tendência do efeito das variáveis. Para obter um refinamento dos valores das variáveis, ou seja, os pontos ótimos do sistema utilizam-se os Planejamentos Compostos Centrais (PCC), matriz Doehlert ou Box- Behnken que se baseiam na metodologia de superfície de resposta (TARLEY *et al*, 2009).

II.5.2. Metodologia de superfície de resposta - Planejamentos composto central

A metodologia de superfície de resposta é uma técnica estatística utilizada para a modelagem e análise de problemas nos quais a variável resposta é influenciada por vários fatores, cujo objetivo é a otimização dessa resposta. Para isso são utilizados alguns modelos que descrevem o sistema estudado através de funções polinomiais permitindo avaliar como um fator afeta a resposta analítica quanto a magnitude e à direção (TEÓFILO & FERREIRA, 2006).

O planejamento experimental escolhido para construção de superfícies de resposta deve proporcionar boas estimativas para todos os coeficientes, fornecer condições de avaliar se o modelo apresenta falta de ajuste e, além disso deve necessitar de um número relativamente pequeno de experimentos. O Planejamento Composto Central, ou Central Composite Design (CCD), é um dos planejamentos mais utilizados para ajustar modelos quadráticos, uma vez que apresenta os critérios citados acima (TARLEY *et al.*, 2009).

A matriz do planejamento composto central é composta por um planejamento fatorial completo do tipo 2^k e por uma parte chamada axial formada por $2k$ experimentos, onde estes pontos são situados nos eixos do sistema de coordenadas com distância $\pm \alpha$ da origem dos experimentos, sendo $\alpha = \sqrt[4]{2^k}$. Na matriz desse planejamento são realizados também experimentos no ponto central com replicatas. Desta forma o número de experimentos é determinado por $N = 2^k + 2k + cp$, onde k é o número de fatores e (cp) é o número de repetição do ponto central; neste planejamento todos os fatores são estudados em cinco níveis $(-\alpha, -1, 0, 1, +\alpha)$ (FERREIRA *et al.*, 2007).

Com a realização dos experimentos desse planejamento, são fornecidas informações que permitem descrever a relação das interações entre os fatores escolhidos sob um modelo quadrático, gerando esse uma superfície, cujo ponto de máximo corresponde às condições ótimas de análise.

II.5.3. Função desejabilidade

Em sistema ou metodologias em que são obtidas diferentes respostas, a otimização pode ser morosa, exigindo um número muito grande de experimentos e, além disso pode fornecer condições diferentes de análise para cada tipo de resposta. Diante disso, DERRINGER e SUICH (1980), apresentaram uma ferramenta importante para otimização de sistemas multi-resposta, através do uso de funções de desejabilidade.

A aplicação das funções de desejabilidade em química analítica traz vantagens como a eficiência, a economia de reagentes e a objetividade na otimização. Apesar das evidentes vantagens desta metodologia na otimização de procedimentos analíticos, ainda existem poucos trabalhos encontrados na literatura que utilizaram essa estratégia de otimização. A maioria dos trabalhos encontrados utilizaram as funções de desejabilidade na otimização de técnicas cromatográficas e afins, principalmente porque podem estabelecer condições para a

melhor resolução entre os vários picos simultaneamente (BEZERRA *et al.*, 2008; HADJMOHAMMADI & SHARIFI, 2012; MEINHART *et al.*, 2011; MARAN *et al.*, 2013).

As funções de desejabilidade, tem como princípio a transformação das multi-respostas em uma única resposta por meio de transformações matemáticas. A primeira etapa consiste na transformação das respostas em desejabilidade individual, ou seja, as respostas são transformadas em valores adimensionais, em que os valores variam entre $d_i = 0$, para uma resposta completamente indesejável e $d_i = 1$, para uma resposta totalmente desejada. Esta transformação torna possível combinar os resultados obtidos para as propriedades medidas em diferentes ordens de grandeza. As equações que permitem obter as desejabilidades individuais estão apresentadas nas equações (3) quando objetiva-se a maximização das respostas e (4) quando deseja-se a minimização das respostas.

$$d_i = \left(\frac{y_i - L}{H - L} \right)^t \quad \text{Equação (3)}$$

$$d_i = \left(\frac{y_i - H}{L - H} \right)^s \quad \text{Equação (4)}$$

Onde, y_i é a resposta obtida em um dado experimento, L e H são a menor e a maior resposta obtidas no conjunto de medidas observado e t e s são o peso atribuído a cada uma das variáveis (TARLEY *et al.*, 2012).

Após a obtenção dos valores de cada resposta obtida para as diferentes variáveis em desejabilidade individual, a desejabilidade global pode ser obtida através da equação 5.

$$D = \sqrt[m]{d_1^{P1} d_2^{P2} \dots \dots d_n^{Pn}} \quad \text{Equação (5)}$$

Onde, m é o número de respostas e Pn o peso atribuído a cada uma das variáveis. Com a obtenção dos valores de desejabilidade global é possível através do tratamento dos dados obter gráficos dos perfis de desejabilidade que apresentam as melhores condições para

as variáveis em estudo e que fornecem sinal analítico satisfatório as diferentes respostas que compõem o sistema utilizado (REGUERA *et al.*, 2008).

CAPÍTULO 1

Desenvolvimento de uma metodologia para determinação de As(III) e As total em fertilizantes fosfatados por extração assistida por ultrassom e espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto

1.1 INTRODUÇÃO

O conhecimento do nível de metais tóxicos presentes nos fertilizantes é importante uma vez que os mesmos podem ser transferidos para a cadeia alimentar humana. Dentre os contaminantes presentes nos fertilizantes, destaca-se o arsênio, que está amplamente disperso no ambiente e tende a estar presente nas suas formas inorgânicas, nos estados de oxidação (+3 e +5), que infelizmente, são mais tóxicas do que o arsênio orgânico (YANG *et al.*, 2012; TUZEN *et al.*, 2010; MACEDO *et al.*, 2010). Desta forma o conhecimento da especiação de arsênio, principalmente das espécies inorgânicas, é importante porque a biodisponibilidade e os efeitos fisiológicos e toxicológicos desse elemento depende da sua forma química. A toxicidade do As(III) é cerca de 10-20 vezes maior do que a do As(V) (WU *et al.*, 2011).

A exposição em longo prazo ao arsênio inorgânico tem sido investigada e está associada a doenças como insuficiência renal, dermatites, doenças cardiovasculares, diabetes, lesão hepática e a cânceres nos rins, fígado, pulmão e pele (KARIM *et al.*, 2010; MARCHISET-FERLAY *et al.*, 2012; MCCLINTOCK *et al.*, 2012; SLOTNICK & NRIAGU, 2006).

A determinação do arsênio, bem como a sua especiação tem sido realizada utilizando técnicas que incluem a geração de hidreto (GONZÁLVEZ *et al.*, 2009; WU *et al.*, 2011), cromatografia líquida (YANG *et al.*, 2012; NARANMANDURA *et al.*, 2010), cromatografia gasosa (CAMPILLO *et al.*, 2008) e eletroforese capilar (YANG *et al.*, 2009; MATUSIEWICZ & ŚLACHCIŃSKI, 2012). Dentre essas técnicas a mais utilizada é a geração de hidretos por apresentar alta sensibilidade e relativa simplicidade.

Na geração de hidretos é requerido que a amostra esteja na forma líquida desta forma para a análise de amostras sólidas, como é o caso dos fertilizantes, estas precisam passar por uma etapa de preparo de amostras.

O preparo de amostras, para análise de especiação de arsênio em amostras sólidas requer uma preparação cuidadosa, uma vez que o elemento é volátil e é necessário evitar a modificação da identidade e da concentração das espécies (REYES *et al.*, 2008). O pré-tratamento na análise de amostras sólidas geralmente requer a digestão da amostra para garantir a remoção completa dos compostos de interesse da matriz. No entanto, estes procedimentos geralmente utilizam ácidos minerais concentrados, altas temperaturas e alta pressão e, além disso, podem resultar na perda de analitos e em contaminações (DRISTOZOV *et al.*, 2004; GÜNGÖR & ELIK, 2007). Desta forma é necessário o desenvolvimento de

novas metodologias para o preparo das amostras, que garantam a extração quantitativa dos íons metálicos de interesse bem como a sua determinação.

Neste contexto, a extração assistida por ultrassom vem recebendo grande atenção e sua aplicação para o preparo de amostras vem sendo extensivamente explorada, principalmente no desenvolvimento de procedimentos de extração, pois permite a simplificação do processo de preparo, permitindo que o mesmo seja realizado em temperatura ambiente e com o uso de ácido diluídos, evitando assim que em análises de especiação haja a interconversão das espécies de interesse (SERESHTI *et al*, 2012; ROCHEBROCHARD *et al*, 2013; DENG *et al*, 2009; CALLE *et al*, 2009; PONTES *et al*, 2010, NEVES *et al*, 2009).

1.2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste capítulo foi o desenvolvimento de uma metodologia rápida e exata para análise de especiação de arsênio inorgânico em amostras de fertilizantes fosfatados empregando a extração assistida por ultrassom, para o preparo da amostra e detecção por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos.

Os objetivos específicos deste capítulo foram:

- Otimizar as variáveis do sistema de geração hidretos; como vazão da amostra, do redutor, do ácido e concentração do ácido e do redutor
- Otimizar as condições experimentais para realizar a especiação de As(III) e As total.
- Avaliar e otimizar um procedimento para extração das espécies de arsênio utilizando banho de ultrassom.
- Aplicar o método proposto na análise de fertilizantes fosfatados comercializados no Brasil.

1.3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

1.3.1. Instrumentação e Acessórios

A quantificação das espécies de arsênio foram realizadas utilizando um espectrômetro de absorção atômica com chama Agilent Technologies Spectra AA220 (Santa Clara, CA, USA), equipado com acessório de geração de vapor VGA-77. Na Figura 1.1 é mostrada a representação esquemática do sistema de geração de hidretos, onde uma bomba peristáltica realiza a propulsão da amostra, do ácido e do redutor em um fluxo contínuo. Através de uma confluência a amostra é acidificada e em seguida entra em contato com o redutor, essa mistura é carreada para bobina de reação que promove a homogeneização da amostra com os reagentes, ácido clorídrico e borohidreto de sódio, ocorrendo a geração do hidreto. Um fluxo de nitrogênio a 100 mL min^{-1} é introduzido no sistema, antes da bobina de reação a fim de facilitar a separação do hidreto formado da fase líquida. Neste ponto, a mistura é carreada para um separador gás-líquido, onde a fase líquida é drenada e a fase gasosa contendo o hidreto gerado é transportada por um fluxo auxiliar de nitrogênio para uma célula de quartzo, com aquecimento contínuo em chama de ar/acetileno, colocada sobre o queimador do espetrômetro de absorção atômica, onde ocorrem as etapas de atomização e detecção.

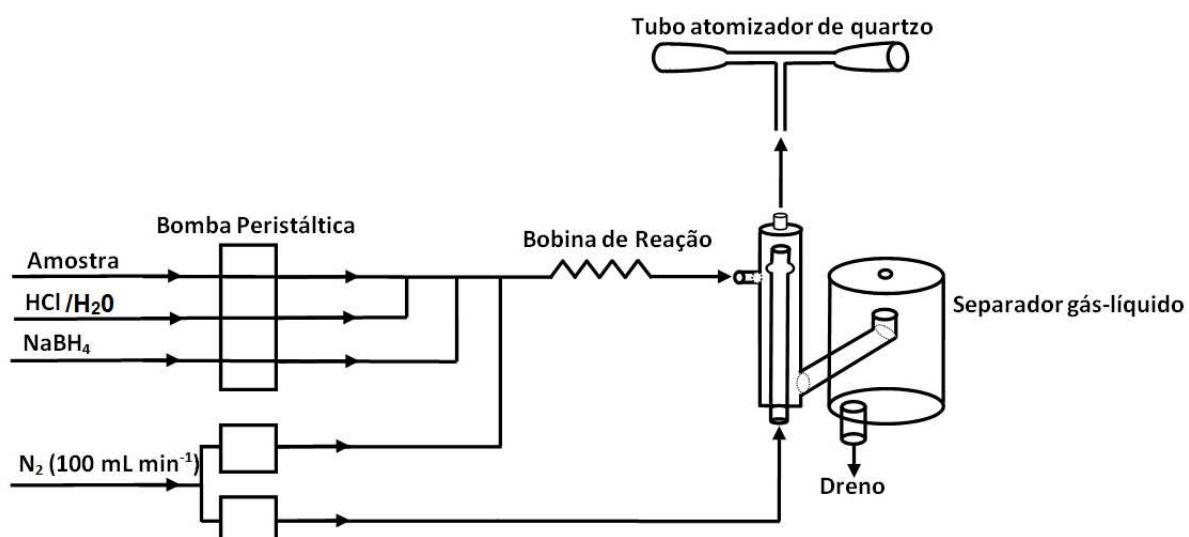


Figura 1.1. Representação esquemática do sistema de geração de hidretos.

Para correção do sinal de fundo foi empregada uma lâmpada de deutério e como fonte de radiação utilizou-se lâmpada de descarga de catodo oco de arsênio Varian (Victoria, Austrália). Os parâmetros instrumentais utilizados seguiram as recomendações do fabricante e são apresentados na Tabela 1.1. O ajuste do pH para o preparo da solução tampão foi feito utilizando um medidor de pH Digital GEHAKA (São Paulo, Brasil) equipado com eletrodo de vidro combinado e sensor de temperatura. Um banho de ultrassom Unique (Indaiatuba, Brasil) com freqüência de 40 kHz foi empregado na extração de arsênio das amostras e uma centrifuga Kindly KC3 (Jaguaré, Brasil) foi utilizada na separação das fases.

Tabela 1.1. Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de arsênio.

Parâmetro	As
Comprimento de onda (nm)	193,7
Resolução espectral (nm)	0,5
Vazão de ar ($L\ min^{-1}$)	13,5
Vazão de acetileno ($L\ min^{-1}$)	2,0

1.3.2. Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas utilizando reagentes de pureza analítica e água deionizada obtida do sistema purificador/deionizador de água GEHAKA (São Paulo, Brasil). Os frascos plásticos para armazenamento das soluções e as vidrarias foram descontaminados em banho de HNO_3 10% (v/v) por 24 horas. Posteriormente, o material foi lavado várias vezes com água deionizada e, em seguida, seco a temperatura ambiente.

Soluções padrão de As(III) e As(V) 1000 mg L^{-1} foram preparadas por dissolução adequada de arsenito de sódio ($NaAsO_2$) e hidrogenoarsenato de sódio heptaidratado ($Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$) Vetec (Rio de Janeiro, Brasil), respectivamente. As soluções de trabalho foram preparadas por diluições apropriadas das soluções estoque.

Como agente redutor foi utilizado tetrahidroborato de sódio ($NaBH_4$) Merck (Darmsadt, Alemanha), as soluções foram preparadas no momento da análise, sendo preservada em meio de 0,5 % (m/v) de $NaOH$ Synth (São Paulo, Brasil).

Ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) e citrato de sódio ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$) Synth (São Paulo,

Brasil) foram utilizados para o preparo da solução tampão. Para estudo da redução do As(V) a As(III) foram utilizadas soluções de diferentes concentrações de cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH.HCl}$), tiouréia ($(\text{NH}_2)_2\text{CS}$), L-cisteína ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$) e tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3.5\text{H}_2\text{O}$) Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Soluções de ácido clorídrico foram preparadas a partir do ácido concentrado Merck (Darmsdadt, Germany).

Para extração empregando radiação ultrasônica foram utilizadas soluções de ácido nítrico preparadas a partir do ácido concentrado Merck (Darmsdadt, Germany) e soluções de Triton X-114 Sigma-Aldrich (St. Louis, United States).

No estudo de interferentes as soluções dos metais Fe(III), Mg(II), Mn(II), Zn(II), Cd(II), Cr(VI), Co(II), Cu(II), Ni(II), V(II) e Pb(II) foram preparadas a partir de diluições adequadas de uma solução estoque 1000 mg L^{-1} Merck (Darmsdadt, Germany).

O material certificado de referência NIST SRM 695, Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer (Gaithersburg, United States) foi utilizado para avaliar a exatidão do método.

1.3.3 Amostras

As amostras de fertilizantes utilizadas neste trabalho são provenientes de indústrias nacionais. Elas foram secas em estufa a 50°C até a obtenção de massa constante e em seguida foram peneiradas e a fração de 45 a 90 mm foi utilizada nos experimentos. As amostras foram armazenadas em frascos de polietileno e mantidas em dessecador à temperatura ambiente.

1.3.4. Otimização das variáveis do sistema de geração de hidretos

As variáveis que podem influenciar na etapa de geração de hidretos como vazão da amostra, vazão do redutor, vazão do ácido e concentração do ácido e do redutor foram otimizadas de forma univariada. A otimização foi realizada utilizando uma solução de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III).

1.3.5. Especiação de arsênio inorgânico

1.3.5.1. Determinação de As(III)

No estudo de especiação de As(III), foi realizado o controle do pH das amostras através do uso de tampão ácido cítrico/ citrato de sódio. Foram estudados valores de pH entre 3,5 a 6,0 e concentrações de 0,025 a 0,750 mol L⁻¹. Para este estudo foram utilizadas as condições otimizadas do método, exceto a linha do ácido que foi substituída por água, uma vez que o meio ácido para formação da arsina a partir do As(III) será proveniente da solução tampão. A curva de calibração foi preparada nas mesmas condições da amostra.

1.3.5.2. Determinação de arsênio total

Para determinação do As total foram estudados diferentes pré-redutores para a espécie de As(V), como tiossulfato de sódio, L-cisteína, tiouréia e cloridrato de hidroxilamina. Os pré-redutores foram adicionados nas amostras e nos padrões antes da determinação. A concentração de As(V) e As(III) foi mantida constante a 5,0 µg L⁻¹ e foi determinada utilizando as condições otimizadas do método.

1.3.6. Estudo de Interferentes

Com a finalidade de avaliar os possíveis interferentes na determinação de arsênio um estudo foi realizado com os metais comumente encontrados nas amostras de fertilizantes: Fe(III), Mg(II), Mn(II), Zn(II), Cd(II), Cr(VI), Co(II), Cu(II), Ni(II), V(II) e Pb(II). Para tal foram preparadas soluções padrões de As(III) na concentração de 1,0 µg L⁻¹ e, adicionadas concentrações conhecidas do interferente a ser estudado, na proporção de 1:5, 1:10, 1:100, 1:500, 1:1000 e 1:5000. Foi apontado como interferência as razões que ocasionavam uma perturbação no sinal da solução de As(III) em 10% (DĚDINA, 1982). O fator de interferência foi definido por:

$$FI = \frac{A'}{A}$$

onde A' é o valor da absorbância relativa à solução de As(III) na presença do interferente e A é a absorbância da solução de As(III) sem o interferente.

1.3.7. Procedimento de extração

Cerca de 100 mg de cada amostra de fertilizante foram pesadas em frascos de polipropileno de 50 mL, ao qual foram adicionados 10 mL de solução de ácido nítrico e 10 mL de solução de Triton X-114. A mistura resultante foi agitada e, em seguida submetida a radiação ultrasônica em um banho de ultrassom. As amostras foram sonicadas separadamente onde, o tubo foi colocado na região do banho com a maior incidência de propagação do ultrassom. Os extratos foram separados através de centrifugação a 3000 rpm durante 10 min.

Para a determinação do As(III) e As total, volumes conhecidos do extrato foram colocados em frascos de polipropileno de 50 mL e submetidos ao procedimentos proposto para cada espécie de interesse. O volume do extrato utilizado variou em função da concentração de arsênio presente em cada amostra.

1.3.7.1. Otimização do procedimento de extração

Com a finalidade de obter extração quantitativa do arsênio foi realizada a otimização dos parâmetros que podem influenciar no processo de extração. Foram estudados o tempo de sonicação, a concentração do ácido nítrico e do Triton X-114 utilizando planejamento fatorial completo de dois níveis, para verificar o nível de influência de cada variável na extração. O procedimento usado foi o mesmo apresentado no item 1.3.7, utilizando o material certificado de referência NIST SRM 695 como amostra. A Tabela 1.2 apresenta as variáveis e os níveis estudados no planejamento fatorial.

Tabela 1.2. Variáveis e níveis estudados no planejamento fatorial 2³.

Níveis	HNO ₃ (mol L ⁻¹)	% Triton X-114 (m/v)	Tempo (min)
-	0,5	0,0	0,0
+	2,5	0,25	20,0

Após a realização dos experimentos do planejamento fatorial, os dados experimentais foram processados utilizando o software Statistica ® e foi construído o gráfico de Pareto que possibilitou avaliar como cada um desses fatores afeta a extração. De acordo com os resultados obtidos, foi realizado um planejamento composto central (CCD), para obtenção das condições ótimas de extração, ou seja, extração máxima. A Tabela 1.3 apresenta as variáveis e os níveis do estudos no planejamento composto central.

Tabela 1.3. Variáveis e níveis estudados no planejamento composto central.

Níveis	HNO ₃ (mol L ⁻¹)	% Triton X-114 (m/v)	Tempo (min)
-	2,0	0,25	10,0
+	6,0	0,5	30,0
0	4,0	0,38	20,0
- 1,68	0,6	0,17	3,2
+1,68	7,4	0,59	36,9

1.3.8. Figuras de Mérito

Sob condições otimizadas para determinação de As total e As(III), foram estabelecidas algumas características analíticas para o método proposto como, precisão, limites de detecção e quantificação, exatidão e faixa de trabalho.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram definidos como 3 e 10 vezes o valor do desvio padrão de 10 medidas dos brancos dividido pelo coeficiente angular da equação linear da curva analítica, respectivamente (INMETRO, 2003). A precisão foi

representada na forma de desvio padrão relativo (DPR, %). A exatidão do método foi avaliada através da análise do material certificado de referência NIST SRM 695.

1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1. Otimização das variáveis do sistema de geração de hidretos

1.4.1.1. Otimização da concentração do redutor

Para otimização da concentração de NaBH_4 foi estudada a faixa de concentração de 0,05 a 1,20% (m/v) e o resultado pode ser observado na Figura 1.2. A absorbância aumentou com o aumento da concentração do redutor até a concentração de 0,8% (m/v). Entretanto a partir da concentração de 0,4% (m/v) foi observado um aumento no desvio padrão e uma pequena queda no sinal na concentração de 1,2 % (m/v), isso ocorre porque o excesso de NaBH_4 aumenta a pressão do sistema, isso pode ser observado pelo excesso de gás gerado no meio, levando a dispersão e consequente diluição da arsina formada. Desta forma, com a finalidade de garantir a precisão nas leituras a concentração de 0,4% (m/v) foi escolhida para as próximas etapas.

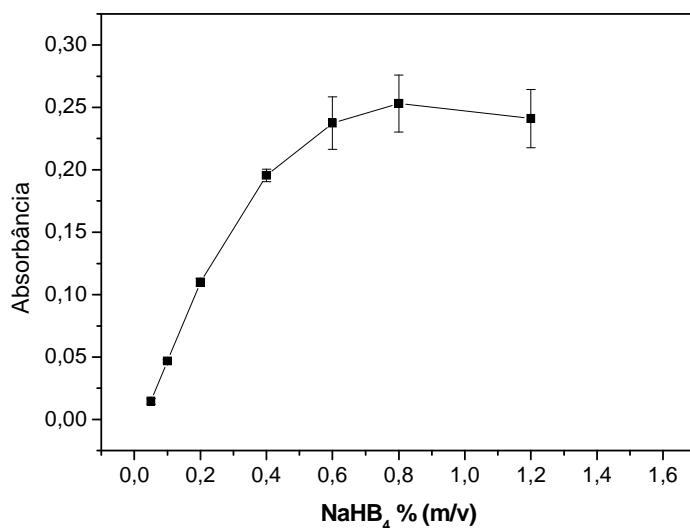


Figura 1.2. Estudo da concentração de NaBH_4 na determinação de As(III). Condições: HCl 8% (m/v), vazão da amostra $7,5 \text{ mL min}^{-1}$, vazão do ácido e do redutor $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. As(III) $5 \mu\text{g L}^{-1}$.

1.4.1.2. Otimização da concentração do ácido

O estudo da concentração do ácido é fundamental, pois a partir da hidrólise ácida do NaHB₄, é formado o hidrogênio que reduz o analito a sua forma de hidreto. A Figura 1.3 mostra o resultado deste estudo. Foram estudadas concentrações de HCl na faixa de 1 a 15% (v/v). Apesar da concentração de 15% (v/v) ter apresentado maior sinal, houve também um aumento na dispersão dos resultados, desta forma a concentração de 10% (v/v) foi escolhida para realizar os próximos experimentos, sem que haja perda significativa na sensibilidade.

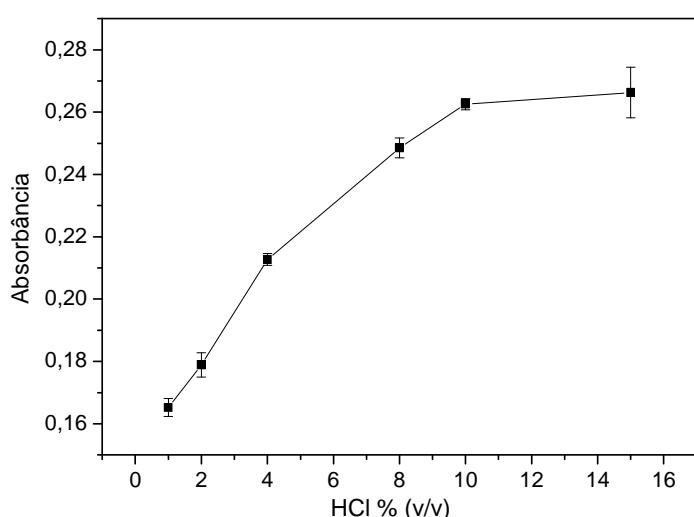


Figura 1.3. Estudo da concentração de HCl na determinação de As(III). Condições: NaBH₄ 0,4% (m/v), vazão da amostra 7,5 mL min⁻¹, vazão do ácido e do redutor 1,0 mL min⁻¹. As(III) 5 µg L⁻¹.

1.4.1.3. Otimização das vazões da amostra, do redutor e do ácido

No estudo da vazão da amostra foram estudadas as vazões 1, 2, 3, 4, 6, 8 e 10 mL min⁻¹. O sinal aumentou pronunciadamente até a vazão 6,0 mL min⁻¹ com um aumento de aproximadamente 200%, como pode ser observado na Figura 1.4. Após esta vazão o sinal tende a se estabilizar, uma vez que com alto fluxo do analito no sistema o redutor passa a ser um limitante da reação e, além disso a alta vazão diminui a eficiência no processo de separação gás-líquido. Desta forma a vazão de 6,0 mL min⁻¹ foi selecionada para os experimentos subsequentes.

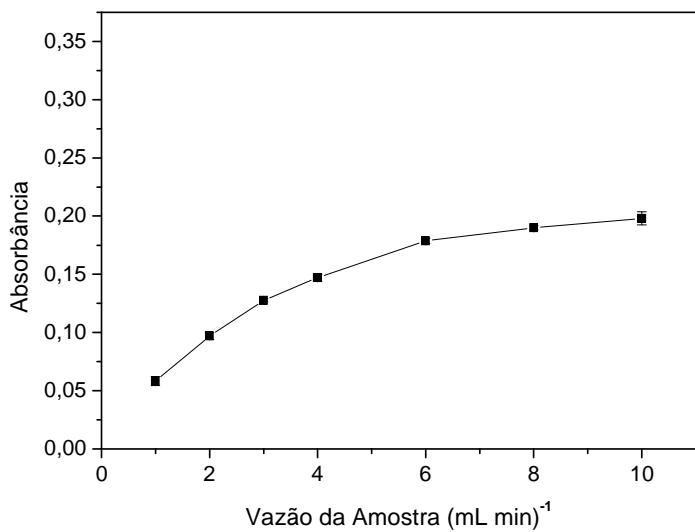


Figura 1.4. Estudo da vazão da amostra na determinação de As(III). Condições: NaBH₄ 0,4% (m/v), HCl 10,0 (v/v), vazão do ácido e do redutor 1,0 mL min⁻¹. As(III) 5 µg L⁻¹.

A Figura 1.5 refere-se ao estudo da vazão do ácido, não foi observada uma grande influência desta variável no sistema na faixa de vazão estudada, que foi de 0,5 a 4,0 mL min⁻¹, houve um aumento somente de 20% no sinal entre a menor vazão e a maior vazão estudada, sendo assim a vazão de 1,5 mL min⁻¹ foi selecionada, visando garantir o sinal analítico e, além disso, economia de reagentes.

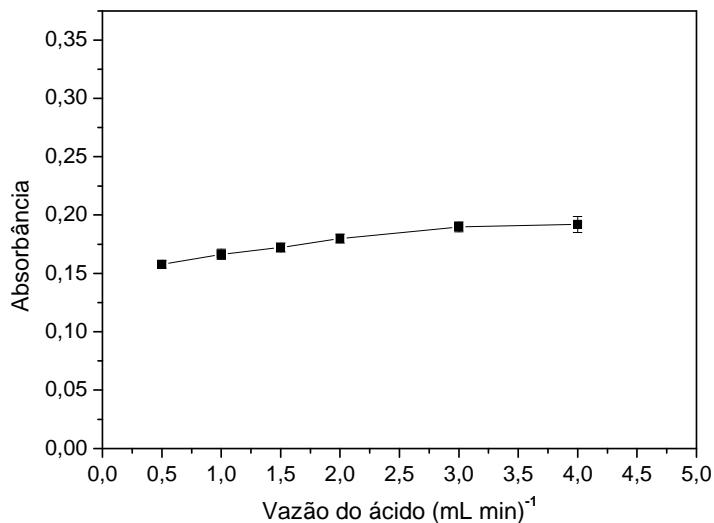


Figura 1.5. Estudo da vazão do ácido na determinação de As(III). Condições: NaBH₄ 0,4% m/v, HCl 10,0 (v/v), vazão da amostra 6,0 mL min⁻¹, vazão do redutor 1,0 mL min⁻¹. As(III) 5 µg L⁻¹.

O estudo da vazão do NaBH_4 é fundamental, uma vez que baixas vazões podem levar a geração insuficiente de hidrogênio para gerar a arsina. Por outro lado, altas vazões de redutor geram um grande excesso na produção de hidrogênio desestabilizando o sistema. Foram avaliadas vazões de 0,5 a 3,0 mL min^{-1} , como apresentado na Figura 1.6. Acima desta vazão o desvio aumenta consideravelmente, não sendo possível a aquisição de sinais analíticos confiáveis. O sinal analítico aumentou até a vazão de 1,5 mL min^{-1} e, a partir desta vazão tende a se estabilizar, sendo, portanto a vazão de 1,5 mL min^{-1} selecionada como ótima neste sistema.

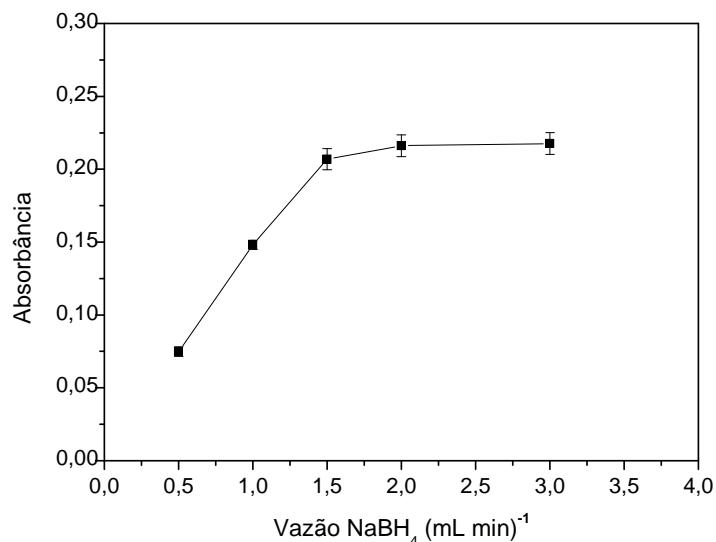


Figura 1.6. Estudo da vazão do redutor na determinação de As(III). Condições: NaBH_4 0,4% (m/v), HCl 10,0 (v/v), vazão da amostra 6,0 mL min^{-1} , vazão do ácido 1,5 mL min^{-1} . As(III) 5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Na Tabela 1.4 é apresentado um resumo da otimização realizada, onde estão apresentadas as variáveis e faixas estudadas, bem como os valores ótimos selecionados para realização das análises.

Tabela 1.4. Variáveis otimizadas para geração de hidretos.

Variáveis	Faixa Estudada	Valor ótimo
NaBH ₄ (% m/v)	0,05 - 1,2	0,4
HCl (% v/v)	1,0 - 15,0	10,0
Vazão da amostra (mL min ⁻¹)	1 - 10	6,0
Vazão do ácido (mL min ⁻¹)	0,5 - 4,0	1,5
Vazão do NaBH ₄ (mL min ⁻¹)	0,5 - 3,0	1,5

1.4.2. Especiação de arsênio inorgânico

1.4.2.1. Determinação de As(III)

Nas condições otimizadas para o sistema de geração de hidretos utilizando As(III) foram construídas curvas analíticas utilizando As(III), As(V) e uma combinação das duas espécies na mesma concentração. As curvas estão apresentadas na figura 1.7.

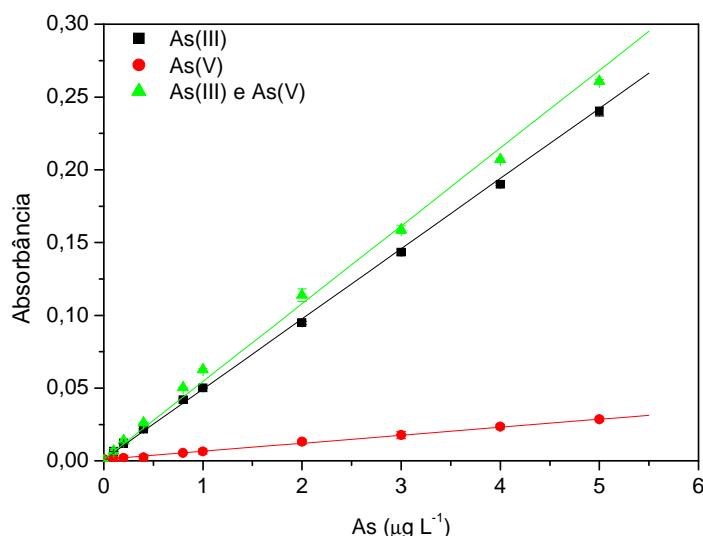
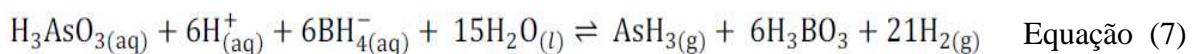
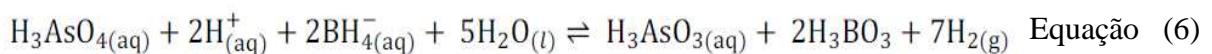


Figura 1.7. Curvas analíticas de As(III), As(V) e As(III)/As(V). Condições: NaBH₄ 0,4% (m/v), HCl 10,0 (v/v), vazão da amostra 6,0 mL min⁻¹, vazão do ácido e do redutor 1,5 mL min⁻¹.

Como pode ser observado, nestas condições a espécie de As(V) foi detectada apresentando sinal analítico cerca de 90% menor em relação ao As(III). Isso ocorre porque a formação do arsano à partir do As(V) utilizando NaHB₄ acontece em duas etapas. Na primeira etapa ocorre a pré-redução do ácido arsênico (H₃AsO₄) que reage com o HB₄⁻ em meio ácido formando o ácido arsenoso (H₃AsO₃), conforme a Equação 6.

Na segunda etapa o ácido arsenoso formado na primeira reação reage novamente com o NaHB₄, formando o AsH₃, conforme a Equação 7, este é atomizado pela chama do espectrômetro, gerando o sinal analítico. Portanto para que todo o As(V) seja convertido em AsH₃ são requeridas altas concentrações de tetraidridoborato, na presença de concentrações altas de ácido.



Quando as espécies de arsênio estão em um meio em que o pH está mais elevado, a primeira etapa de pré-redução do ácido arsênico à ácido arsenoso pode ser inibida, uma vez que o As(V) se encontra na forma de diidrogenoarsenato (H₂AsO₄⁻), espécie que possui uma carga negativa o que pode repelir o HB₄⁻, que também possui uma carga negativa. Assim na presença de HB₄⁻ todo AsH₃ será proveniente da espécie de As(III), permitindo a separação das espécies de arsênio inorgânico (LEHMANN *et al.*, 2013).

Para a determinação da espécie de As(III) o meio diluente da amostra e dos padrões foram controlados através da adição de solução tampão citrato/ ácido cítrico. Foram estudados os valores de pH na faixa de 3,5 a 6,0, sendo a concentração do tampão mantida em 0,5 mol L⁻¹. Valores de pH abaixo de 3,0 geram uma grande quantidade de gás no sistema inviabilizando a aquisição de sinais analíticos confiáveis.

De acordo com a Figura 1.8 pode ser observado que somente o As(III) apresentou sinal analítico, o sinal da espécie de As(V) se manteve próximo ao do branco analítico. Isso ocorre porque o H₃AsO₄, espécie de As(V) reativa com o NaBH₄, só é encontrado em pH próximo ou menor que 1,0, enquanto que nesta faixa de pH estudada praticamente todo As(V) se encontra na forma de H₂AsO₄⁻, espécie não reativa com NaBH₄.

Desta forma foi possível realizar a determinação da espécie de As(III) (LEHMANN *et al.*, 2013). O sinal de absorbância do As(III) se manteve constante, a partir do pH 4,5 sendo portanto escolhido para dar continuidade ao estudo.

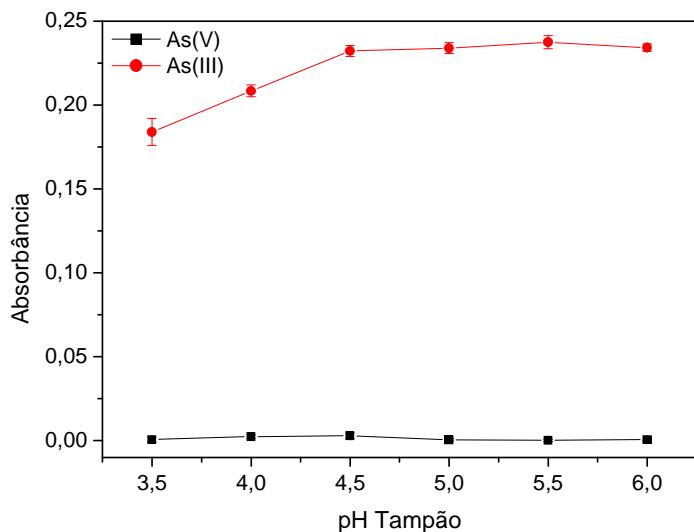


Figura 1.8. Estudo do pH da solução tampão citrato/ácido cítrico. Concentração do tampão 0,5 mol L⁻¹.

Para determinar a melhor condição para determinação do As(III), foi realizado o estudo da concentração da solução tampão citrato/ácido cítrico. O resultado está apresentado na Figura 1.9. Foram estudadas concentrações no intervalo de 0,025 a 0,750 mol L⁻¹, nestas condições o As(V), apresentou sinal analítico próximo ao branco. O sinal analítico do As(III) aumentou com o aumento da concentração da solução tampão até o valor de 0,5 mol L⁻¹, indicando que esta concentração é suficiente para geração quantitativa da arsina, a partir do As(III).

Utilizando as condições otimizadas para a determinação do As(III), foram construídas curvas analíticas, uma contendo somente a espécie de As(III) e outra contendo As(III) e 5 µg L⁻¹ de As(V), utilizando solução tampão como meio diluente dos padrões (Figura 1.10). Como pode ser observado pelas equações das curvas analíticas obtidas, que foram $\text{Abs} = 0,04667 C_{\text{As(III)}} + 0,00606$ para curva contendo somente As(III) e de $\text{Abs} = 0,04701 C_{\text{As(III)}} + 0,00594$, para curva contendo as duas espécies onde Abs é a absorbância e $C_{\text{As(III)}}$ é a concentração analítica de As(III) em µg L⁻¹, não houve diferença significativa entre as inclinações das curvas analíticas. Estes resultados demonstram que a quantificação de

As(III) pode ser realizada por meio do controle do pH no preparo das amostras utilizando solução tampão citrato/ácido cítrico 0,5 mol L⁻¹ em pH 4,5, sem que haja interferência da espécie de As(V).

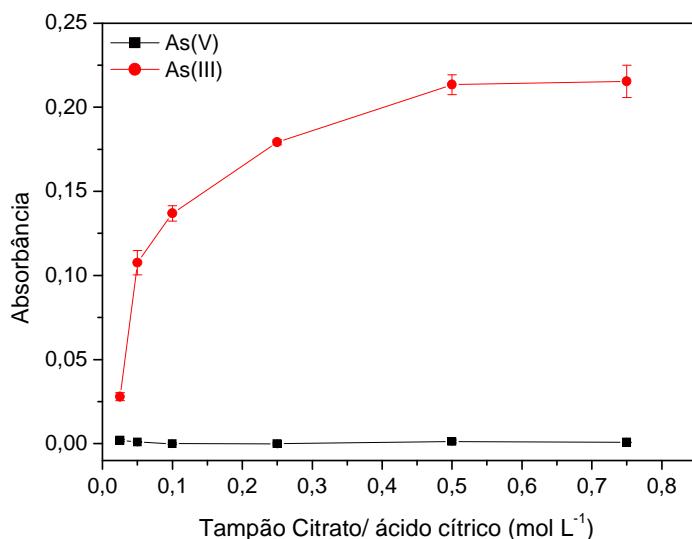


Figura 1.9. Estudo da concentração do tampão citrato/ácido cítrico. pH solução tampão 4,5.

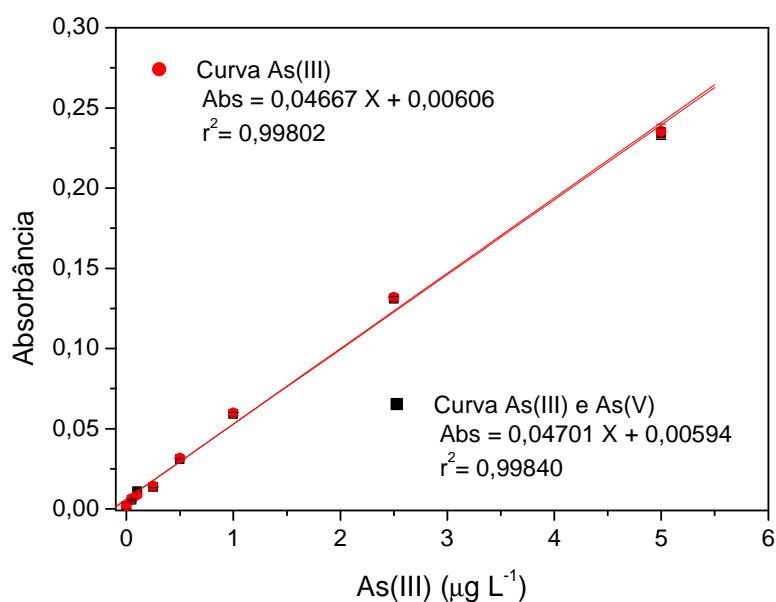


Figura 1.10. Curvas analíticas de calibração • As(III) ■ As(III)/ 5 μg L⁻¹ de As(V), meio diluente tampão.

1.4.2.2. Determinação de As total

Como pode ser observado, pela Figura 1.7 nas condições otimizadas o As(V) foi detectado apresentando sinal analítico de cerca de 12% em relação ao As(III). Isso ocorre porque as condições de acidez e concentração de redutor requeridas para a formação da arsina a partir das espécies de As(III) e As(V), bem como para as espécies orgânicas, são bastante diferentes sendo complexo encontrar condições de acidez aceitáveis sob o qual todas as arsinas são geradas com eficiência semelhante.

Desta forma para realizar a determinação de As total nas condições otimizadas é necessário que a espécie de As(V) seja previamente reduzida a As(III) antes da detecção. Na literatura podem ser encontrados diversos trabalhos utilizando agentes redutores. Neste trabalho foram avaliados os redutores tiossulfato de sódio (GHAMBARIAN *et al.*, 2010; RIVAS *et al.*, 2009; ULUSOY *et al.*, 2011), L-cisteína (FENG *et al.*, 1998; JIANG *et al.*, 2009), tiouréia (DÖKER *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2011) e cloridrato de hidroxilamina (NIEDZIELSKI & SIEPAK, 2003). O estudo foi realizado comparando a absorbância da arsina gerada a partir do As(V) e da arsina gerada a partir do As(III), em concentração igual a $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e na mesma concentração de redutor.

O redutor cloridrato de hidroxilamina foi estudado na faixa de concentração de 0,05 a 4,0% (m/v). Nestas concentrações apesar do sinal de As(III) ter se mantido praticamente constante não foi possível realizar a redução do As(V) pois o sinal analítico do mesmo também se manteve próximo ao valor do branco, como pode ser observado na Figura 1.11.

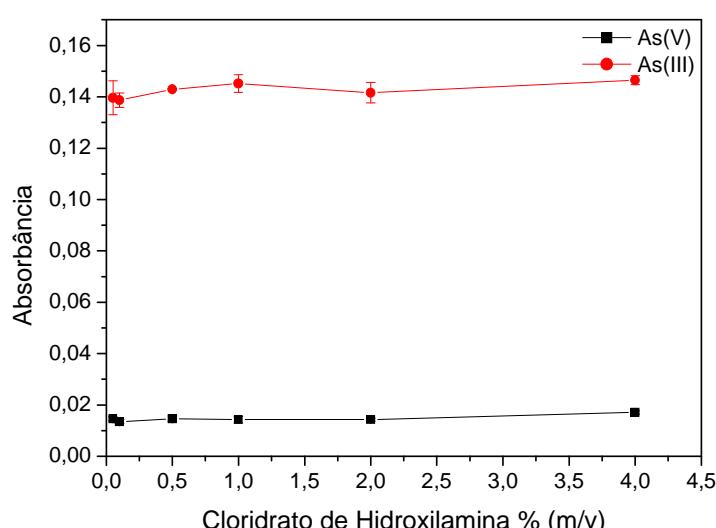


Figura 1.11. Estudo da concentração de cloridrato de hidroxilamina na redução do As(V). Condições: As(III) $5 \mu\text{g L}^{-1}$ e As(V) $5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Na Figura 1.12 é apresentado o resultado para estudo utilizando L-cisteína como agente redutor. Foi observado uma equivalência entre os sinais de As(III) e As(V) para concentração de 0,1% (m/v) de L-cisteína, entretanto ocorre um decréscimo acentuado no sinal de absorbância com o aumento da concentração de L-cisteína para as duas espécies de As. A partir da concentração 0,5 % (m/v) o sinal analítico é praticamente nulo, isso ocorre provavelmente devido a afinidade que o As(III) possui pelo grupo sulfidrila presente na molécula da L-cisteína, formando um complexo, desta forma a quantidade de As(III) livre para formar arsina diminui, causando a depreciação do sinal analítico.

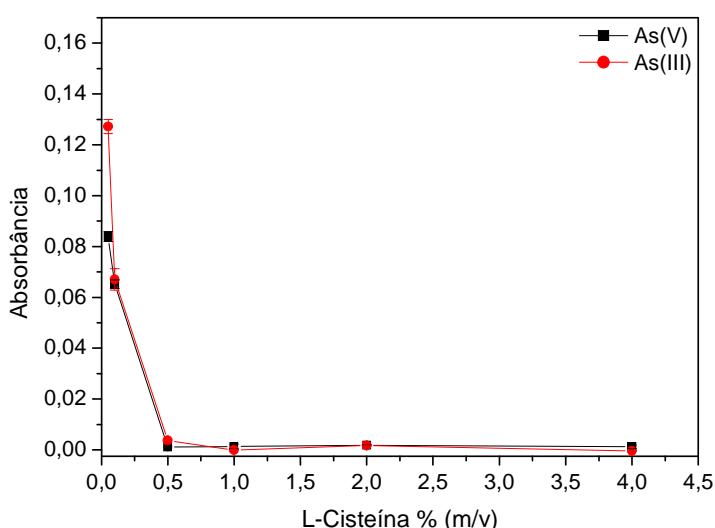


Figura 1.12. Estudo da concentração de L-cisteína na redução do As(V). Condições: As(III) e As(V) $5 \mu\text{g L}^{-1}$.

O tiosulfato de sódio apresentou um comportamento semelhante a L-cisteína, entretanto não houve em nenhuma das concentrações estudadas uma equivalência entre as respostas das espécies. Isso pode ser comprovado pela observação do gráfico apresentado na Figura 1.13.

Entre os redutores estudados a tiouréia apresentou-se sendo o melhor agente redutor da espécie de As(V) (Figura 1.14). Além disso, a sensibilidade do método não é prejudicada uma vez que não promove a queda no sinal de absorbância do As(III). Com a concentração de 0,1 % (m/v) cerca de 92% do As(V) é reduzido para As(III) e a partir da concentração de 0,5% (m/v), os resultados entre as espécies são estatisticamente iguais a um nível de 95% de

confiança, indicando uma redução de 100% do As(V). Desta forma, com o intuito de garantir a redução completa do As(V) e aumentar a faixa linear de trabalho a concentração de 1,0% (m/v) de tiouréia foi escolhida para realizar a redução da espécie de As(V) a As(III).

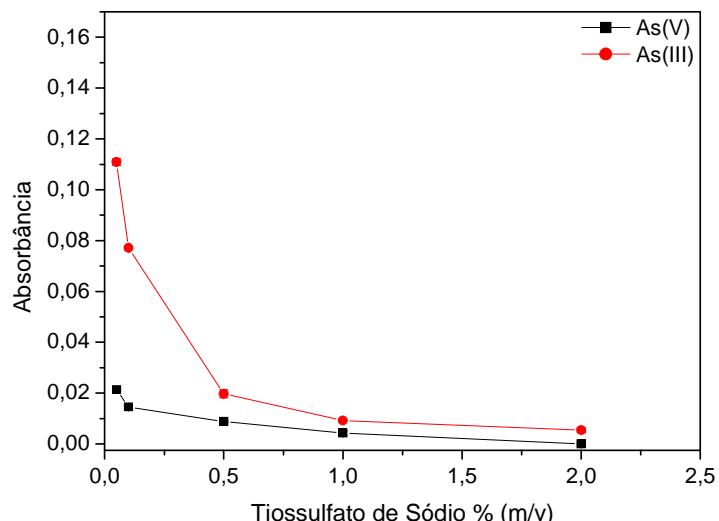


Figura 1.13. Estudo da concentração de tiossulfato de sódio na redução do As(V). Condições: As(III) e As(V) 5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

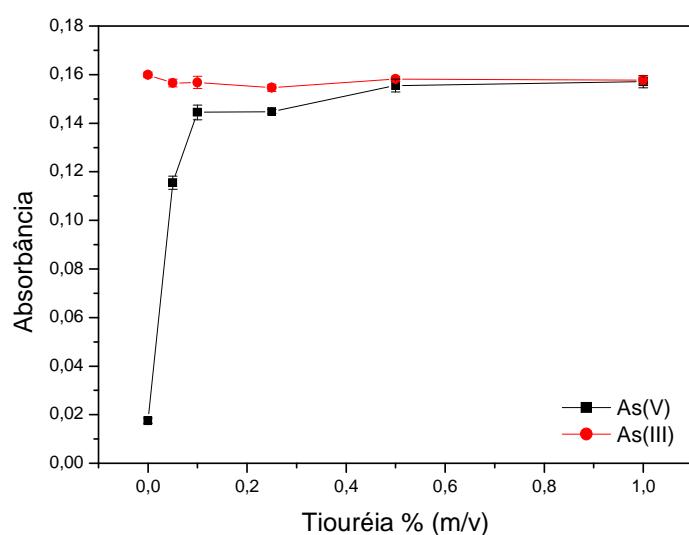


Figura 1.14. Estudo da concentração de tiouréia na redução do As(V). Condições: As(III) e As(V) 5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Para avaliar a extensão e a aplicabilidade do pré-redutor a diferentes concentrações de As(V), foi construída uma curva analítica na faixa de 0,5 a 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Como comparação

foi construída uma curva analítica de As(III) nas mesmas condições, o resultado pode ser visto na Figura 1.15. As curvas analíticas não apresentaram diferenças significativas entre si, assegurando a potencialidade da tiouréia como agente redutor do As(V), possibilitando a determinação de As total.

A Tabela 1.5 apresenta os parâmetros, a faixa estudada e os valores ideais para a determinação das espécies de arsênio.

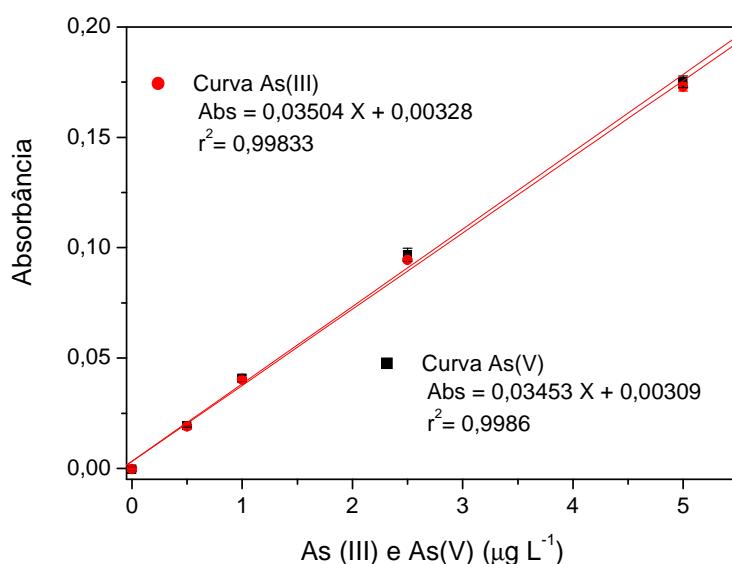


Figura 1.15. Curvas analíticas de calibração ● As(III) e ■ As(V) meio diluente tiouréia 1,0% (m/v).

Tabela 1.5. Condições otimizadas para determinação de As (III) e As (total).

Variáveis	Faixa Estudada	Valor ótimo
As(III)		
pH Tampão	3,5 - 6,0	4,5
Concentração do Tampão (mol L⁻¹)	0,025 - 0,75	0,5
Linha do ácido	Água	
As (total)		
Tiouréia (% m/v)	0,05 - 2,0	1,0
Linha do ácido	HCl 10% (v/v)	

1.4.3. Estudo de Interferentes

Com a finalidade de avaliar as possíveis espécies interferentes na determinação do As(III), um estudo foi realizado com os íons metálicos comumente encontrados em amostras de fertilizantes. O estudo revelou que, Mg(II), Mn(II), Zn(II), Cd(II), Cr(VI), Cu(II) e Pb(II), não afetaram o sinal do As(III) em nenhuma das proporções estudadas, conforme Tabela 1.6.

Tabela 1.6. Estudo de íons interferentes na determinação de As total.

Interferente	Razão As(III) : Interferente					
	1:5	1:10	1:100	1:500	1:1000	1:5000
Co(II)	0,94	0,95	0,95	0,98	1,01	1,23
V(II)	1,02	1,06	1,09	1,08	1,04	0,86
Cu(II)	1,03	0,99	1,02	0,98	0,98	0,95
Ni(II)	1,03	1,01	1,01	0,86	0,89	0,86
Pb(II)	0,95	0,97	1,02	0,99	0,99	0,95
Mg(II)	0,98	0,96	0,98	0,97	0,96	0,91
Cr(VI)	1,05	1,00	0,96	1,00	1,05	0,98
Cd(II)	1,02	0,97	0,96	1,02	1,04	0,96
Zn(II)	1,04	1,05	1,08	1,05	1,03	0,98
Mn(II)	0,93	0,96	0,99	0,95	1,00	0,98
Fe(III)	0,98	1,02	0,91	0,36	0,37	0,39

Foi observado um decréscimo de sinal na proporção 1:5000 causado pelo V(II) e um aumento de sinal nesta mesma proporção pelo Co(II). As interferências mais drásticas foram causadas pelos íons Ni(II) e Fe(III) que ocasionaram uma depreciação no sinal a partir da proporção 1:500. Este efeito foi maior para o Fe(III) que gerou uma queda de aproximadamente 60% no sinal analítico. Essas interferências podem ser atribuídas a possível redução destes metais pelo NaBH₄, em detrimento ao As(III). Em um trabalho realizado por HENDEN e colaboradores (2011) foi estudado os possíveis mecanismos de interferências do níquel na determinação de arsênio e antimônio por geração de hidretos. Os resultados demonstraram que o níquel interfere no mecanismo de formação dos hidretos das espécies de

As(III), As(V) e Sb(III), por causar a adsorção dos metais nos nanocristais de Ni/Ni_xB que é formado na redução do níquel com NaHB₄.

As interferências ocasionadas pelo Ni e Fe, foram observadas em níveis elevados de concentração. O níquel normalmente está presente nos fertilizantes a baixas concentrações, pois é um contaminante oriundo da matéria prima (CARVALHO *et al.*, 2012). Já o ferro está presente nos fertilizantes fosfatados em maiores níveis de concentrações. Entretanto, baseando-se nos valores apresentados no material certificado de referência NIST SRM 695 para as concentrações de ferro e arsênio, a razão entre a concentração desses dois elementos é de aproximadamente 200 valor bem abaixo da razão na qual foi observada a interferência de Fe. Além disso, resultado obtido no teste de exatidão onde a concentração de arsênio total encontrada foi estatisticamente igual ao valor certificado, comprova a eficiência do método analítico, e que o mesmo não foi afetado por nenhuma interferência.

1.4.4. Otimização do procedimento de extração

O procedimento de extração foi baseado no trabalho realizado por Cava-Montesinos *et al.* (2005) para extração das espécies de arsênio de amostras de peixes. Para avaliar a melhor condição a ser utilizada na extração um estudo preliminar foi realizado empregando um planejamento fatorial 2³ na avaliação dos parâmetros: tempo de sonicação (0 e 20 min), concentração do ácido nítrico (0,5 e 2,5 mol L⁻¹) e concentração do Triton X-114 (0 e 0,25 % m/v). Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.7. O tratamento dos dados obtidos foi realizado através de análise de variância (ANOVA), admitindo-se um nível de confiança de 95%. Os resultados estão apresentados em um gráfico de Pareto conforme Figura 1.16.

Tabela 1.7. Resultados obtidos para planejamento fatorial 2³.

Experimento	HNO ₃ (mol L ⁻¹)	% Triton X-114 (m/v)	Tempo de sonicação (min)	% Extração
1	0,5	0,0	0,0	28,2± 0,4
2	2,5	0,0	0,0	38,6± 0,6
3	0,5	0,25	0,0	43,8± 0,6
4	2,5	0,25	0,0	56,5± 0,9
5	0,5	0,0	20	32,6± 1,0
6	2,5	0,0	20	45,0± 0,2
7	0,5	0,25	20	46,1± 0,4
8	2,5	0,25	20	70,5± 0,8

De acordo com o gráfico de Pareto, todas as variáveis avaliadas tiveram um efeito significativo sobre a extração para os domínios experimentais estabelecidos. Os efeitos principais foram positivos, isto é, a porcentagem da extração aumentou com o aumento das concentrações de HNO₃ e Triton X-114 e do tempo de sonicação. O planejamento factorial também forneceu informações sobre a interação entre as variáveis, indicando que a avaliação individual dos parâmetros não seria apropriado, pois não fornece informações sobre as interações.

A interação entre as concentrações de HNO₃ e Triton X-114 foi significativa e teve um efeito positivo, isto é, para um tempo de sonicação igual a 0 (experimentos 1 e 4) e as concentrações de HNO₃ e Triton X-114 variando do nível mínimo para o nível máximo, houve um aumento de aproximadamente 100% na eficiência de extração. A interação entre o tempo de sonicação e concentração de HNO₃ também apresentou um efeito significativo e positivo no processo de extração. Dentre os efeitos principais o tempo de sonicação foi o que apresentou a menor significância podendo ser considerado como um potencializador da ação do ácido nítrico e do Triton X-114 no processo de extração. Uma extração de cerca de 70% foi atingida quando todas as variáveis foram mantidas em níveis máximos.

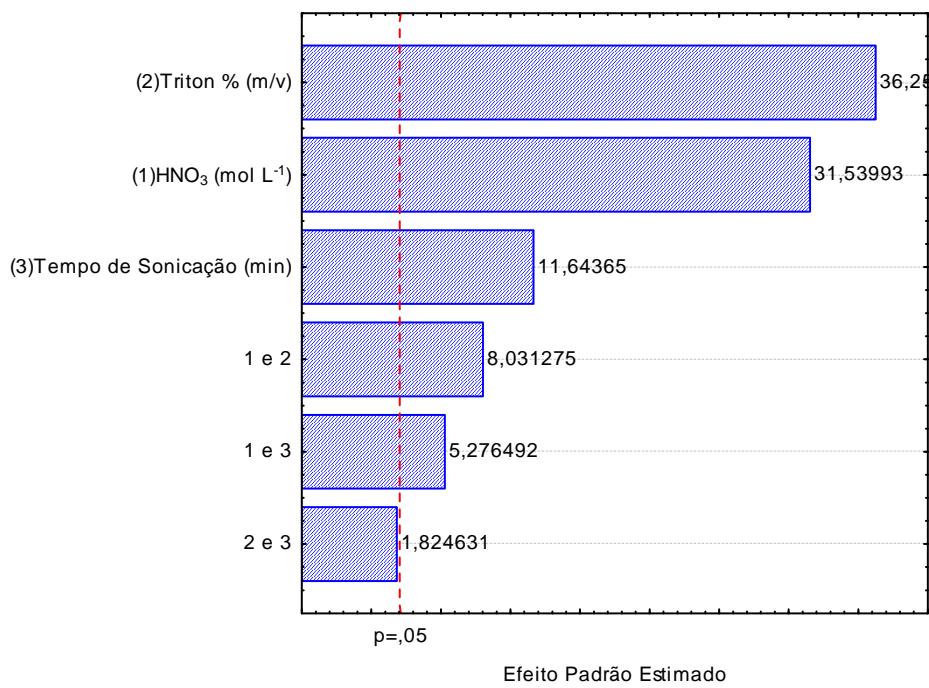


Figura 1.16. Gráfico de Pareto gerado no planejamento fatorial 2³.

Com base nos resultados obtidos para os efeitos e interações entre as variáveis, obtidos através do planejamento fatorial e com o objetivo de obter um extração quantitativa das espécies de arsênio a otimização da extração foi efetuada utilizando uma metodologia de superfície de resposta, por meio da aplicação de um CCD.

Os resultados experimentais obtidos com a aplicação do CCD, juntamente com os valores reais e codificados das variáveis estudadas estão apresentados na Tabela 1.8. Os resultados foram utilizados para construir as superfícies de resposta apresentadas na Figura 1.17 (a, b e c). O modelo gerado apresentou uma porcentagem explicada de 95% da variância total, os perfis das superfícies geradas apresentaram pontos máximos e o modelo matemático previsto forneceu os valores críticos através da primeira derivada da função matemática, que descreve a superfície de resposta. Os valores críticos, que se referem às melhores condições de trabalho para extração do arsênio foram 35 minutos de tempo de sonicação, 0,37 % (m/v) de Triton X-114 e 6,5 mol L⁻¹ de HNO₃.

Tabela 1.8. Planejamento composto central para otimização das condições experimentais para o procedimento de extração.

Experimento	HNO ₃ (mol L ⁻¹)	% Triton X-114 (m/v)	Tempo de sonicação (min)	% Extração
1	2,0 (-1)	0,25 (-1)	10,0 (-1)	52,44
2	2,0 (-1)	0,25 (-1)	30,0 (+1)	59,96
3	2,0 (-1)	0,5 (+1)	10,0 (-1)	54,02
4	2,0 (-1)	0,5 (+1)	30,0 (+1)	60,49
5	6,0 (+1)	0,25 (-1)	10,0 (-1)	86,47
6	6,0 (+1)	0,25 (-1)	30,0 (+1)	95,99
7	6,0 (+1)	0,5 (+1)	10,0 (-1)	87,89
8	6,0 (+1)	0,5 (+1)	30,0 (+1)	88,51
9	0,6 (-1,68)	0,38 (0)	20,0 (0)	45,71
10	7,4 (+1,68)	0,38 (0)	20,0 (0)	99,20
11	4,0 (0)	0,17 (-1,68)	20,0 (0)	60,74
12	4,0 (0)	0,59 (+1,68)	20,0 (0)	83,46
13	4,0 (0)	0,38 (0)	3,2 (-1,68)	82,10
14	4,0 (0)	0,38 (0)	36,9 (+1,68)	92,87
15	4,0 (0)	0,38 (0)	20,0 (0)	88,52
16	4,0 (0)	0,38 (0)	20,0 (0)	87,35
17	4,0 (0)	0,38 (0)	20,0 (0)	87,62
18	4,0 (0)	0,38 (0)	20,0 (0)	86,83
19	4,0 (0)	0,38 (0)	20,0 (0)	88,23

Após a otimização do procedimento de extração com a finalidade de avaliar as possíveis alterações no estado de oxidação das espécies de As (III) e As (V), os padrões destas espécies foram submetidos ao procedimento de extração, utilizando as condições otimizadas. Os resultados foram comparados com os obtidos a partir de padrões aquosos utilizando para análises o procedimento para determinação de arsênio total. Os resultados estão apresentados na Figura 1.18.

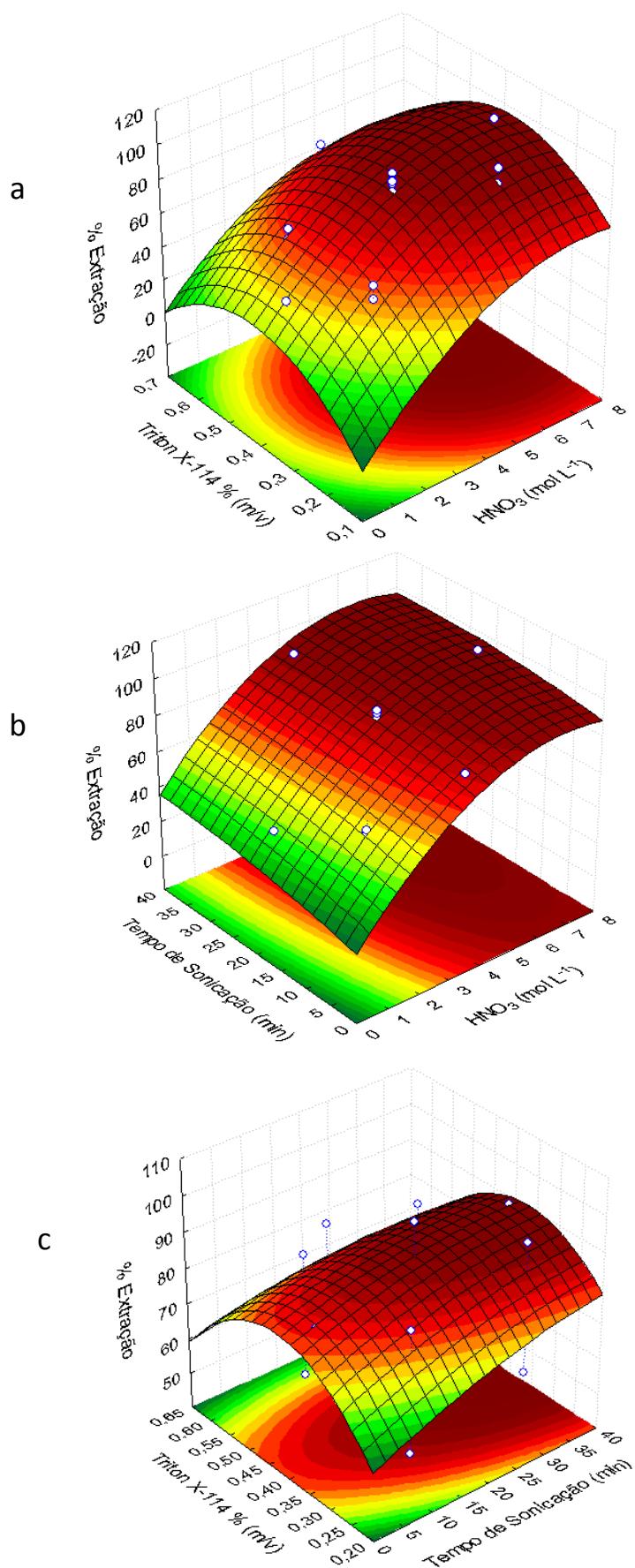


Figura 1.17. Superfícies de resposta obtida no planejamento composto central, a) HNO_3 x Triton X-114, b) HNO_3 x Tempo de Sonicação e c) Tempo de Sonicação x Triton X-114.

Pode ser observado nas concentrações estudadas que não houve alteração significativa no estado de oxidação das espécies depois de serem submetidas ao procedimento de extração, indicando que a metodologia empregada no preparo das amostras mantém a integridade das espécies de interesse durante o processo de extração.

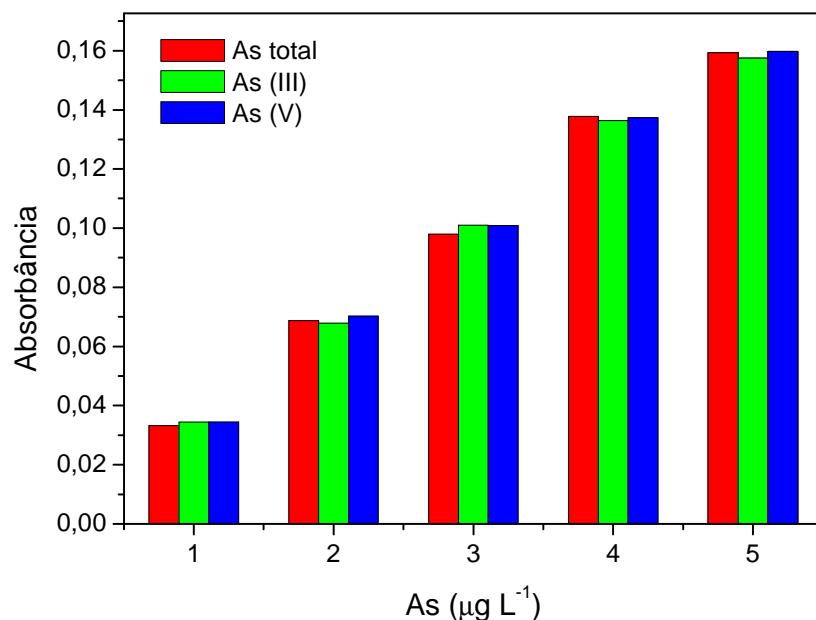


Figura 1.18. Teste de preservação das espécies de As(III) e As(V).

1.4.5. Figuras de Mérito

Após a otimização do método proposto, foram determinadas algumas figuras de mérito na determinação do As total e também do As(III). Foram construídas curvas analíticas com concentrações até $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$. A precisão foi determinada a partir do desvio padrão relativo (DPR) de 8 medidas de uma solução de As(III) e As(V) na concentração de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$. A Tabela 1.9 mostra as figuras de mérito obtidas para o sistema utilizando a metodologia proposta.

Tabela 1.9. Figuras de mérito do método otimizado para determinação de arsênio inorgânico em fertilizantes fosfatados por HG AAS.

Parâmetros	Valor Obtido	
	As(III)	As Total
Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ – 10,0	LQ – 10,0
Equação da curva	$\text{Abs} = 0,03795 \text{ X} + 0,00191$	$\text{Abs} = 0,03293 \text{ X} + 0,00441$
Coeficiente de Correlação Linear	0,9935	0,9961
DPR% (1.0 $\mu\text{g L}^{-1}$, n=8)	3,36	1,94
Limite de detecção ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	0,03	0,02
Limite de quantificação ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	0,10	0,07

1.4.6. Exatidão e Aplicação do Método

A exatidão da metodologia desenvolvida foi verificada através da concentração de As total presente no material certificado de referência NIST SRM 695, o qual foi analisado após ser preparado utilizando a metodologia proposta. O valor certificado da concentração de arsênio total e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 1.10. O resultado para concentração de As total foi comparado através do teste de hipóteses para avaliar a diferença entre o valor obtido e o valor certificado. Foi obtido um valor de $t_{\text{calculado}}$ menor do que o valor de t_{tabelado} ao nível de 95% de confiança, concluindo assim, que a concentração de arsênio total obtida foi consistente com o valor de referência, o que confirma a precisão e viabilidade do método proposto.

Tabela 1.10. Avaliação da exatidão do método, empregando material certificado SRM695.

Material Certificado	Valor Certificado	Método Proposto*	
	(mg Kg^{-1})	As(III) (mg Kg^{-1})	As Total (mg Kg^{-1})
SRM695	200 ± 5	$120 \pm 2,4$	$196 \pm 3,4$

*Valores das médias de 6 extrações independentes

O procedimento proposto foi aplicado na determinação de arsênio total e As (III) em amostras de fertilizantes fosfatados produzidos no estado país, e os resultados são apresentados na Tabela 1.11.

Tabela 1.11. Aplicação do método proposto para determinação de As(III) e As(V) em fertilizantes fosfatados.

Amostras	Resultados (mg Kg ⁻¹)			
	As(III)	DPR%	As Total	DRP%
1	2,6 ± 0,2	5,7	12,46 ± 0,3	1,8
2	2,9 ± 0,4	3,9	11,79 ± 0,7	2,9
3	< LOQ	-	69,02 ± 1,4	2,1
4	<LOQ	-	< LOQ	-

Nas amostras as concentrações de As total, variaram na faixa de < LOQ a 69,02 mg Kg⁻¹ e de As (III) variaram na faixa de < LOQ a 2,9 mg Kg⁻¹, de acordo com esses valores pode-se obter as concentração de As(V) pela diferença dos valores de As total e As(III), que foi na faixa de < LOQ a 69,02 mg Kg⁻¹.

Os valores encontrados de As total estão de acordo com os valores relatados na literatura, onde em um trabalho realizado por Jiao e colaboradores (2012) sobre os riscos ambientais da presença de traços de metais em fertilizantes fosfatos, foi realizado um levantamento em que entre 203 amostras analisadas, 93% das amostras continham menos de 20 mg kg⁻¹ e que somente 2 amostras excediam a concentração de 60 mg Kg⁻¹.

A legislação brasileira estabelece que o conteúdo permitido de As é de 2,0 mg kg⁻¹ para cada ponto percentual do P₂O₅, desta forma para obter um valor comparativo foi utilizado como base os fertilizantes fosfatados mais utilizados no país que são o superfosfato simples que contém cerca de 18 - 20% de P₂O₅ e o superfostato triplo que contém cerca de 44 - 46% de P₂O₅, realizando a conversão dos valores segundo o que a norma estabelece os valores máximos permitidos de As encontram-se entre 36 e 40 mg Kg⁻¹ para o superfosfato simples e 88 e 92 mg Kg⁻¹ para o superfosfato triplo (BIZARRO *et al.*, 2008).

Dentre as amostras analisadas não se tem informações a respeito da porcentagem de P₂O₅ presente em cada uma delas, entretanto em relação as amostras 1 e 2 é possível afirmar que ambas possuem valores de concentração de As menores que o permitido pela legislação

brasileira. Já em relação a amostra 3, isso não pode ser afirmado, uma vez que dependendo da porcentagem de P₂O₅, a mesma pode ou não estar de acordo com a legislação brasileira.

1.5. CONCLUSÃO

O método de extração ácida assistida por ultrassom se apresentou como uma alternativa simples e rápida para o preparo das amostras, permitindo a extração de espécies inorgânicas de arsênio em fertilizantes fosfatados à temperatura ambiente, sem modificar as espécies de arsênio originais. Os parâmetros analíticos obtidos comprovaram a viabilidade do método. Os estudos de exatidão e de precisão efetuados mostraram resultados aceitáveis, com desvios padrões relativos compatíveis com a técnica de HG AAS.

A determinação do As(III) foi realizada através da utilização de meio tamponado em ácido cítrico e citrato de sódio em pH 4,5, possibilitando a separação das espécies de forma simples, rápida e precisa uma vez que, nessas condições a espécie de As(V) não apresenta reatividade com o boroidreto de sódio.

A utilização de ácido nítrico e Triton X-114 juntamente com a energia ultrasônica foi essencial para realizar a extração quantitativa das espécies de arsênio inorgânico. O emprego de planejamentos fatoriais e metodologias de superfície de respostas se mostraram como uma ferramenta importante para otimização do procedimento de extração, uma vez que forneceu informações essenciais sobre os efeitos que cada variável exerce na extração, bem como suas interações. Além disso, foi possível atingir a condição ótima de extração com reduzido número de experimentos, que diminuiu o tempo, custos e geração de resíduos.

CAPÍTULO 2

Desenvolvimento de metodologias analíticas para
determinação de chumbo, cádmio e cromo em
fertilizantes fosfatados empregando espectrometria
de absorção atômica em forno de grafite

2.1 INTRODUÇÃO

Os fertilizantes fosfatados são intensamente utilizados na agricultura, pois suprem a deficiência de fósforo que é essencial para o desenvolvimento vegetal. Entretanto estes são uma fonte potencial de contaminação para solos por conterem teores de metais não essenciais como As, Hg, Pb, Cr e Cd (AYDIN *et al.*, 2010).

A tempo de meia-vida do cádmio é em torno de 10-30 anos. No corpo humano, ele pode se acumular em diversos órgãos, principalmente nos rins e fígado, seguido pelo pulmão e pâncreas. A prolongada ingestão de Cd(II) e sua consequente acumulação, pode causar danos aos rins e fígado, distúrbios gastrointestinais, hipertensão, infertilidade, doenças ósseas, destruição do tecido testicular e das células vermelhas do sangue. Algumas enzimas que contém Zn(II) podem ter suas estruturas alteradas, devido à substituição do Zn(II) pelo Cd(II), o que impede a atividade catalítica das mesmas. A proteína metalotioneína, cujo papel é regular o metabolismo do Zn(II), pode complexar quase todo o Cd(II) ingerido pelo homem e o complexo é eliminado através da urina. Entretanto, se a quantidade de Cd absorvida exceder a capacidade de complexação dessa proteína, o metal se acumula nos órgãos humanos (REZENDE, 2010).

O cromo é encontrado no ambiente nas valências +3 e +6, sendo a forma hexavalente mais tóxica do que a trivalente. O Cr(III) é essencial ao ser humano pois está relacionado com o metabolismo de glicose, lipídeos e proteínas. Já o Cr(VI) é tóxico ao ser humano, sendo associado a alguns tipos de cânceres. O Cr(VI) apresenta baixa degradabilidade, permanecendo ativo no meio ambiente por um longo período de tempo e também apresenta maior mobilidade que o Cr(III), uma vez que seus ânions são facilmente transportados através do solo. Podem ser introduzidos na dieta humana através dos alimentos que o absorvem de solos contaminados (MATOS *et al.*, 2008).

A ingestão de chumbo pode provocar distúrbios de comportamento, dificuldade de concentração e de aprendizado e, contaminações mais drásticas podem causar alterações no sistema nervoso, na medula óssea e nos rins. Testes evidenciaram que crianças e gestantes são mais atingidas pela contaminação por chumbo, uma vez que testes em cobaias comprovaram que processos genéticos ou cromossômicos sofrem interferências. Além disso pode produzir alterações na estabilidade da cromatina, inibindo reparo de DNA e agindo como agente cancerígeno (ZINI *et al.*, 2009).

Diante desse quadro, torna-se necessário o desenvolvimento de metodologias rápidas, precisas e exatas para a determinação de metais presentes em fertilizantes. Os métodos mais comumente utilizados no preparo de amostras envolvem digestão da amostra através da utilização de chapa de aquecimento ou aquecimento por microondas com ácidos concentrados. Uma alternativa a esses métodos é a realização da extração utilizando ácidos diluídos associados ao uso da energia ultrasônica que tem se apresentado como uma técnica simples, rápida, segura e de baixo custo, capaz de promover a extração quantitativa dos elementos de interesse.

2.2 OBJETIVOS

O estudo desenvolvido neste capítulo tem como objetivo principal o desenvolvimento de métodos para determinação de chumbo, cádmio e cromo em amostras de fertilizantes fosfatados empregando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS).

Os objetivos específicos foram:

- Otimização dos programas de temperatura para determinação de Cd,Cr e Pb por GF AAS
- Avaliação e otimização do procedimento de preparo de amostras utilizando ácidos diluídos e energia ultrassônica na extração de Cd, Cr e Pb.
- Aplicar o método proposto na análise de fertilizantes fosfatados comercializados no Brasil.

2.3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

2.3.1. Instrumentação e acessórios

As análises foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica Agilent Technologies Spectra AA240 Zeeman (Santa Clara, CA, USA), equipado com forno de grafite GTA 120 e amostrador automático 120. As leituras foram feitas em absorbância integrada (área de pico). A correção do sinal de fundo foi realizada pelo corretor Zeeman e como fonte de radiação utilizou-se lâmpadas de catodo oco monoelementares de Cd, Pb e Cr Varian (Victoria, Austrália). Os parâmetros instrumentais utilizados seguiram as recomendações do fabricante e são apresentados na Tabela 2.1. Como gás inerte de limpeza foi usado argônio de alta pureza 99,99% White Martins (Uberlândia, Brasil). As medidas de absorbância foram realizadas em tubos de grafite pirolítico com plataforma de L'Vov inserida (Agilent Technologies).

Um banho de ultrassom Unique (Indaiatuba, Brasil) com freqüência de 40 kHz foi empregado na extração dos metais das amostras e uma centrifuga Kindly KC3 (Jaguaré, Brasil) foi utilizada na separação das fases. Um bloco digestor TECNAL (Piracicaba, Brasil) foi utilizado para mineralização das amostras.

Tabela 2.1. Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de Cd, Cr e Pb.

Parâmetro	Cd	Cr	Pb
Comprimento de onda (nm)	228,8	357,9	283,3
Resolução espectral (nm)	0,5	0,2	0,2
Corrente da lâmpada (mA)	4,0	10,0	10,0
Gás de arraste	Ar	Ar	Ar

2.3.2. Reagentes, soluções e amostras

Todas as soluções foram preparadas utilizando reagentes de pureza analítica e água deionizada obtida do sistema purificador/deionizador de água Gehaka (São Paulo, Brasil). Os frascos plásticos para armazenamento das soluções e as vidrarias foram descontaminados em

banho de HNO_3 10% (v/v) por 24 horas. Posteriormente, o material foi lavado várias vezes com água deionizada e, em seguida, seco a temperatura ambiente.

Soluções de referência de cádmio, chumbo e cromo foram preparadas em 5% (v/v) de ácido nítrico por diluições de soluções estoques de 1000 mg L^{-1} , obtida a partir de ampolas titrisol Merck (Darmstadt, Germany). Soluções de 1000 mg L^{-1} de irídio, nióbio, paládio, tântalo, rutênio, ródio, titânio e zircônio obtidas da Sigma AldrichTM (St Louis, United States) foram utilizadas como modificadores permanentes no tratamento dos tubos de grafite.

Para extração foram utilizadas soluções de ácido nítrico e ácido clorídrico preparadas a partir dos ácidos concentrados Merck (Darmsdadt, Germany). O material certificado de referência NIST SRM 695, Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer (Gaithersburg, United States) foi utilizado para avaliar a exatidão do método.

As amostras de fertilizantes utilizadas neste trabalho são provenientes de indústrias nacionais. Elas foram secas em estufa a 50°C até obter massa constante e em seguida foram peneiradas e a fração de 45 a 90 mm foi utilizada nos experimentos. As amostras foram armazenadas em frascos de polietileno e mantidas em dessecador à temperatura ambiente.

2.3.3. Tratamento dos tubos de grafite

Os tubos de grafite com plataformas de L'vov acopladas foram modificados com a impregnação dos modificadores permanente através do programa de temperatura específico baseado no trabalho de SILVA e colaboradores (1999), apresentado na Tabela 2.2. Esse procedimento foi realizado utilizando $25 \mu\text{L}$ das soluções de 1000 mg L^{-1} dos modificadores introduzidos pelo pipetador automático sobre a superfície da plataforma, e foi repetido 20 vezes a fim de obter um depósito de 500 mg de modificador permanente sobre a plataforma de L'vov.

Tabela 2.2. Programa de temperatura do GF AAS utilizado para tratamento da plataforma de L'vov com modificadores permanentes.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de Ar (mL min ⁻¹)
1	90	5	15	300
2	140	5	15	300
3	1000	10	10	300
4	2000	0	5	0
5	20	1	10	300

2.3.4. Otimização das condições de análise

2.3.4.1. Triagem dos modificadores

A primeira etapa da otimização consistiu na escolha do modificador permanente e com a finalidade de aproximar as condições de otimização às condições de análises foi utilizada nessa etapa um extrato do material certificado NIST SRM 695, uma vez que ele possui os metais em estudo Cd, Pb e Cr em sua composição.

O extrato foi preparado utilizando 50 mg da amostra, que foi pesado em frasco de polipropileno de 50 mL, ao qual foi adicionado 10 mL de solução de ácido clorídrico 2,0 mol L⁻¹ e colocado em um banho de ultrassom por 10 minutos. Após a sonicação, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm durante 10 min e o sobrenadante foi separado.

O extrato foi analisado utilizando os diferentes tubos modificados sob as condições recomendadas pelo fabricante para as etapas de pirólise, atomização e limpeza, conforme Tabela 2.3. Foram escolhidos os dois tubos que apresentaram maior sinal analítico, melhor correção de fundo, reproduzibilidade e sinais típicos obtidos nas análises por GF AAS conforme Figura 2.1.

Tabela 2.3. Programa de temperatura recomendado pelo fabricante na análise de soluções aquosas de Cd, Pb e Cr.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de Ar (mL min ⁻¹)
Secagem	85	5,0	-	300
	95	40,0	-	300
	120	10,0	-	300
Pirólise	250 (Cd)			
	400 (Pb)	5,0	3,0	300
	1000 (Cr)			
Atomização	1800 (Cd)			
	2100 (Pb)	1,0	2,0	0
	2600 (Cr)			
Limpeza	2500	2,0	-	300

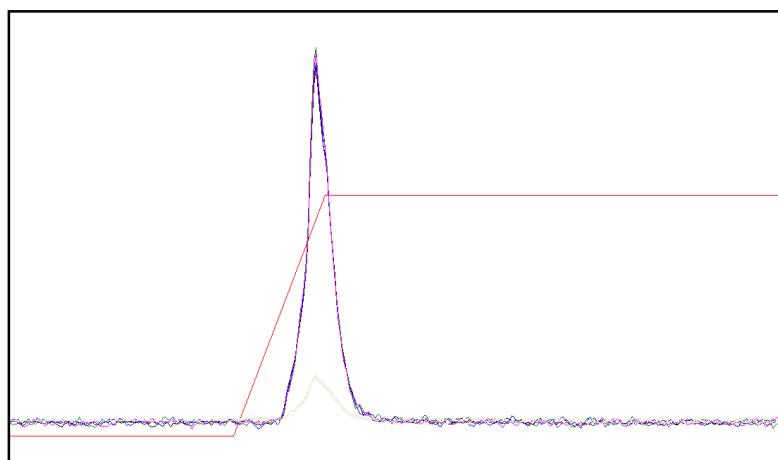


Figura 2.1. Perfil típico do sinal obtido nas análises por GF AAS.

2.3.4.2. Otimização dos programas de temperatura

Para determinar as condições ótimas de análise foram avaliadas as variáveis temperatura de pirólise (TP), temperatura de atomização (TA) e modificador através de um planejamento fatorial 2³. A Tabela 2.4 apresenta os níveis estudados no planejamento fatorial

para cada metal. A temperatura de secagem não foi avaliada, uma vez que os extratos continham água como solvente no preparo das soluções. Neste sentido, foi utilizada uma temperatura convencional na etapa de secagem de 120°C.

Os valores das temperaturas de pirólise e atomização para cada nível foram escolhidos com base nos valores recomendados pelo fabricante e para os dois modificadores selecionados foram atribuídos um para o nível baixo (-) e outro para o nível alto (+).

Tabela 2.4. Níveis estudados no planejamento fatorial 2³.

Níveis	TP (°C)	TA (°C)	Modificador
-	200 (Cd)	1800 (Cd)	Nb (Cd)
	400 (Pb)	2000 (Pb)	Nb (Pb)
	800(Cr)	2000 (Cr)	Zr (Cr)
+	500 (Cd)	2300 (Cd)	Pd (Cd)
	600 (Pb)	2500 (Pb)	Ti (Pb)
	1200 (Cr)	2400 (Cr)	Pd (Cr)

Os dados obtidos pelo planejamento fatorial foram tratados e foram construídos os gráficos de Pareto utilizando o software Statistica® (STATISTICA, 1999). Os resultados indicaram o melhor modificador para cada metal e também como as temperaturas de pirólise e atomização influenciam nos sinais analíticos.

Dessa forma, de acordo com os resultados do planejamento fatorial, as variáveis indicadas como significativas e/ou que apresentaram interação significativa, foram otimizadas através da realização de planejamento composto central (CCD) 2², envolvendo as variáveis temperatura de pirólise e atomização, uma vez que a variável tipo de modificador, sendo qualitativa, foi definida pelo planejamento fatorial.

As variáveis indicadas como não significativas pelo planejamento fatorial e que também não apresentaram interação significativa, tiveram seu valor fixado de acordo com a tendência observada pelo planejamento fatorial. Já a variável que apresentou-se significativa e que por sua vez não possui interação significativa, foi otimizada de forma univariada. Para essa otimização foi utilizada também uma solução aquosa do metal em estudo a fim de obter

dados a respeito da influência do solvente e da matriz no comportamento das temperaturas de pirólise e atomização.

2.3.5. Efeito de Matriz

Para verificar o efeito de matriz dos métodos propostos, foram preparadas curvas analíticas em triplicata para Cd, Pb e Cr empregando como meio diluente solução de HCl 2 mol L⁻¹ e curvas analíticas por ajuste de matriz utilizando extrato do material certificado NIST SRM 695, utilizando o mesmo meio de preparação. As inclinações angulares obtidas para as curvas foram comparados mediante aplicação do teste F (Snedecor) de homogeneidade de variâncias e o teste t (Student) de comparação de médias ao nível de 95% de confiança.

2.3.6. Procedimento de extração

Cerca de 100 mg de cada amostra de fertilizante foram pesados em frascos de polipropileno de 50 mL, aos quais foram adicionados 10 mL de solução de ácido nítrico e 10 mL de solução de ácido clorídrico. A mistura resultante foi agitada e, em seguida submetida a radiação ultrasônica em um banho de ultrassom. As amostras foram sonicadas separadamente, sendo o tubo colocado na região do banho com a maior incidência de propagação do ultrassom. Os extratos foram separados através de centrifugação a 3000 rpm durante 10 min.

2.3.6.1. Otimização do procedimento de extração

A otimização do procedimento de extração foi realizada utilizando planejamento factorial completo de dois níveis com ponto central, para avaliar as variáveis como tempo de sonicação, concentração do ácido nítrico e ácido clorídrico na extração de Cd, Pb e Cr dos fertilizantes fosfatados.

Neste estudo foi utilizado o material certificado de referência NIST SRM 695 como amostra. Foram avaliados os mesmos níveis para Cd, Pb e Cr com a finalidade de obter um único procedimento de extração que seja capaz de extrair quantitativamente os metais em

estudo. A Tabela 2.5 apresenta a matriz do planejamento fatorial com níveis estudados para cada variável.

Tabela 2.5. Matriz do Planejamento Fatorial 2^3 com ponto central .

Experimento	HNO ₃ (mol L ⁻¹)	% Triton X-114 (m/v)	Tempo (min)
1	0,0 (-1)	0,0 (-1)	0,0 (-1)
2	1,0 (+1)	0,0 (-1)	0,0 (-1)
3	0,0 (-1)	1,0 (+1)	0,0 (-1)
4	1,0 (+1)	1,0 (+1)	0,0 (-1)
5	0,0 (-1)	0,0 (-1)	30 (+1)
6	1,0 (+1)	0,0 (-1)	30 (+1)
7	0,0 (-1)	1,0 (+1)	30 (+1)
8	1,0 (+1)	1,0 (+1)	30 (+1)
PC	0,5 (0)	0,5 (0)	15 (0)

Após a realização dos experimentos do planejamento fatorial fracionário, os dados experimentais foram processados utilizando o software Statistica ® e foi construído o gráfico de Pareto que possibilitou avaliar como cada um desses fatores afeta a extração.

2.3.7. Características analíticas do método proposto

O desempenho analítico do método desenvolvido foi avaliado por meio da obtenção de algumas figuras de mérito. As faixas utilizadas na calibração analítica foram selecionadas de acordo com os valores esperados para as amostras. Foram utilizados geralmente 6 níveis de concentração e a linearidade para os métodos desenvolvidos foi verificada pelo valor do coeficiente de correlação (r^2).

Os limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), foram estimados a partir da medida da estimativa de desvio padrão da medida da concentração de dez brancos analíticos (s), os quais foram calculados como 3 e 10 vezes s dividido pela inclinação da curva analítica. Esses valores expressam o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método e a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de exatidão e precisão, respectivamente (ANVISA, 2011).

A precisão que define a concordância ou proximidade de medidas independentes feitas sob condições definidas, foi expressa em termos de desvio padrão relativo (% DPR). Os valores de DPR avaliados como aceitáveis são dependentes da concentração do analito, que de acordo com GUILHEN *et al* (2010), podem ser de 11% para medidas na faixa próximas a 1 mg L^{-1} e de 30% para medidas próximas a $1 \mu\text{g L}^{-1}$.

A sensibilidade do método, que determina o quanto o método é capaz de discriminar pequenas diferenças na concentração de um analito, foi determinada através da massa característica (m_0), que é a massa do analito necessária para produzir um sinal de 0,0044 de Abs (absorbância integrada), correspondente a 1% de absorção (GUNDUZ & AKMAN, 2013).

A exatidão do método foi avaliada através da análise do material certificado de referência NIST SRM 695. E visando a comparação entre o método de preparo de amostras desenvolvido com o método que utiliza digestão ácida com aquecimento em bloco digestor, o material certificado foi submetido a digestão conforme o procedimento descrito abaixo.

A metodologia utilizando bloco digestor foi baseada no método de referência EPA 3050B recomendado pela United States Environmental Protection Agency (USEPA) no preparo de amostras de sedimentos, lamas e solos. Para isso, foram adicionados nos tubos de digestão 10 mL de HNO_3 concentrado contendo aproximadamente $0,5 \pm 0,001 \text{ g}$ da amostra. O mesmo foi aquecido com temperatura controlada a $95 \pm 5^\circ\text{C}$ por 10 minutos, sem levar a fervura. Após, resfriar, foram adicionados 5 mL de HNO_3 concentrado e levado ao aquecimento por mais 30 minutos (até eliminação completa dos vapores de NO_2). Em seguida, após o resfriamento foram adicionados 2 mL de H_2O e 3 mL de H_2O_2 a 30%, vagarosamente para evitar perda devida a uma efervescência excessiva. A mistura foi aquecida até redução do volume a aproximadamente 5 mL; e para finalizar foram adicionados 10 mL de HCl concentrado e retomado o aquecimento por 5 minutos. Após esfriar, as alíquotas foram filtradas com papel de filtro para balão volumétrico de 100 mL e o volume foi

completado com água. Os digeridos obtidos foram analisados sob as mesmas condições analíticas otimizadas para as análises, empregando o método de preparo desenvolvido.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1. Otimização do método para a determinação de Cd, Pb e Cr

Nas análises por GF AAS a otimização do programa de temperatura é essencial, uma vez que as temperaturas de pirólise e atomização exerce papel fundamental na sensibilidade do método. Comumente os equipamentos fornecem informações sobre os programas de aquecimento para soluções aquosas. Entretanto, quando os mesmos são aplicados em amostras complexas, estas podem conter componentes que podem causar interferência na pirólise das amostras e, consequentemente na atomização do analito.

Desta forma é imprescindível a realização da otimização dos programas de temperatura a fim de garantir a completa evaporação do solvente, bem como a eliminação dos constituintes da matriz da amostra através da pirólise, que possibilita a redução de eventuais interferências, antes da realização da atomização do analito.

2.4.1.1. Otimização do programa de temperatura na determinação de Cd

Para avaliar as melhores condições de análise para determinação de Cd, foram avaliados os diferentes modificadores permanentes, como irídio, nióbio, paládio, tântalo, rutênio, ródio, titânio, zircônio e também um tubo sem modificador.

Os resultados obtidos para os diferentes modificadores permanentes avaliados estão apresentados na Tabela 2.6. Como pode ser observado, os modificadores que apresentaram maior sinal analítico foram nióbio e paládio. Além disso os desvios padrões foram relativamente pequenos e os perfis dos sinais analíticos foram simétricos, com pico característico e baixo sinal de fundo.

Alguns trabalhos na literatura tem utilizado esses modificadores na determinação de Cd em diversas matrizes. Dobrowolski *et al.* (2010) avaliaram o uso de modificadores permanentes mistos na determinação de Cd em sedimentos e solos e os resultados indicaram que o uso dos modificadores Nb/Ir foram favoráveis na determinação de Cd e além disso prolongaram a vida útil do tubo de grafite. Davis *et al.* (2007) utilizaram o Pd como modificador permanente na análise de cádmio em amostras de urina.

Para prosseguir o procedimento de otimização foi realizado um planejamento fatorial 2^3 utilizando os dois modificadores permanentes selecionados bem como as variáveis temperatura de pirólise e de atomização. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.7. Os mesmos foram tratados utilizando software Statistica 7.0 e os resultados estão apresentados em um gráfico de Pareto conforme Figura 2.2.

Tabela 2.6. Estudo dos modificadores na determinação de Cd em fertilizantes fosfatados por GF AAS.

Modificador Permanente	Absorbância Integrada
Irídio	$0,4142 \pm 0,0052$
Nióbio	$0,6167 \pm 0,0062$
Paládio	$0,5868 \pm 0,0168$
Ródio	$0,4623 \pm 0,0318$
Tântalo	$0,4628 \pm 0,0117$
Titânio	$0,4860 \pm 0,0095$
Zircônio	$0,4355 \pm 0,0258$
Sem Modificador	$0,5510 \pm 0,0136$

Tabela 2.7. Resultados obtidos para o planejamento fatorial 2^3 para determinação de Cd.

Experimento	TP (°C)	TA (°C)	Modificador	Absorbância Integrada
1	200	1800	Nb	$1,0443 \pm 0,0064$
2	500	1800	Nb	$0,7813 \pm 0,0019$
3	200	2300	Nb	$0,9904 \pm 0,0120$
4	500	2300	Nb	$0,8175 \pm 0,0176$
5	200	1800	Pd	$0,9844 \pm 0,0156$
6	500	1800	Pd	$0,9841 \pm 0,0136$
7	200	2300	Pd	$0,9664 \pm 0,0198$
8	500	2300	Pd	$1,0337 \pm 0,0326$

O gráfico de Pareto indicou que somente as variáveis principais temperatura de pirólise e modificador apresentaram efeitos significativos em relação ao sinal analítico e que o efeito mais significativo foi a interação entre as variáveis temperatura de pirólise e tipo de modificador permanente. Esse efeito foi significativo positivo, ou seja, o sinal analítico é favorecido quando as duas variáveis estão no nível alto. Desta forma, como o efeito da interação é maior que o efeito principal da variável modificador e a interação foi positiva o modificador paládio foi selecionado como ótimo para determinação de cádmio. Portanto, a otimização da temperatura de pirólise pôde ser realizada de forma univariada.

A variável principal temperatura de atomização não exerceu efeito significativo sobre o sinal de absorbância na faixa estudada e nenhuma interação significativa foi observada envolvendo essa variável. Sendo assim, o valor de temperatura de atomização pode ser atribuído entre a faixa estudada no planejamento fatorial. Entretanto, visando obter informações sobre o comportamento do sinal analítico entre os níveis estudados e também em solução aquosa foram realizados experimentos univariados para a variável temperatura de atomização.

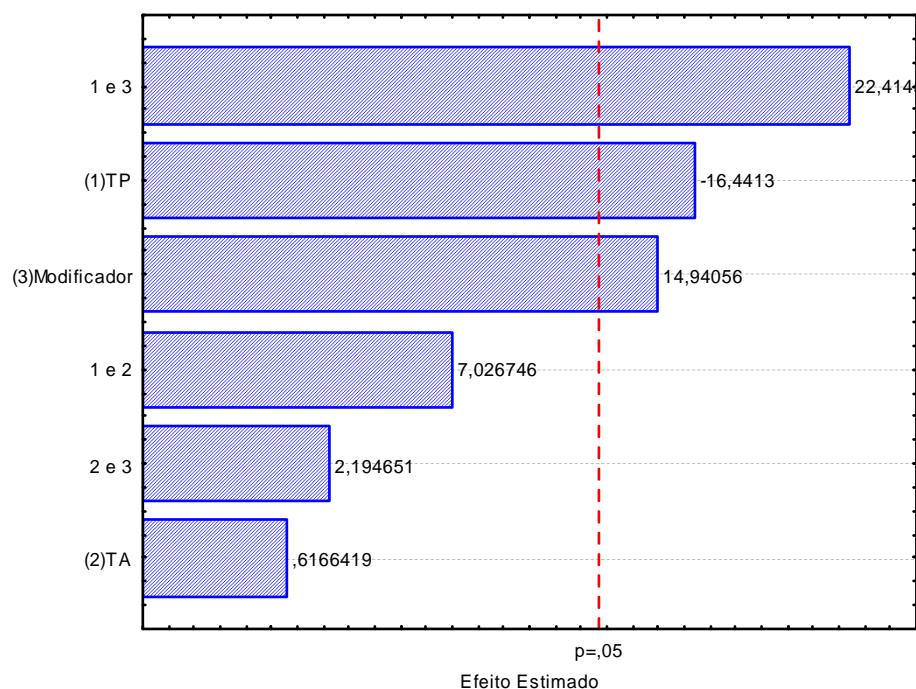


Figura 2.2. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial na determinação de Cd.

A temperatura de pirólise foi estudada na faixa de 150°C a 500°C, sendo a temperatura de atomização fixada em 1800°C. Os dados indicaram que a tendência observada no planejamento fatorial foi seguida, em que o sinal analítico diminui com o aumento da temperatura como pode ser observado na Figura 2.3. Os valores de absorbância apresentaram um pequeno aumento na temperatura de 250°C e a partir dessa temperatura os sinais diminuíram, indicando perda do analito com o aumento da temperatura. Desta forma foi selecionada a temperatura de 250°C para realizar a determinação de Cd.

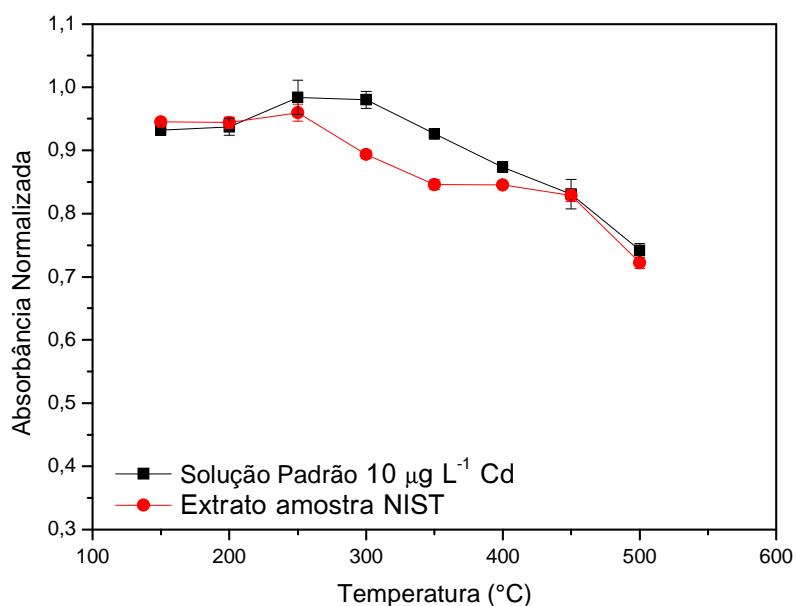


Figura 2.3. Curva de pirólise obtida para determinação de Cd por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TA 1800°C.

A Figura 2.4 refere-se a avaliação do comportamento da temperatura de atomização entre os valores de 1700° e 2300°C. Como esperado os valores de absorbância normalizada foram praticamente constantes ao longo da faixa estudada, havendo somente uma pequena queda do sinal analítico a partir da temperatura de 2100°C, tanto para o extrato da amostra quanto para a solução aquosa, essa observação é recorrente com a característica relativamente volátil do Cd que, em estudos com GF AAS, é usualmente determinado em temperaturas de atomização inferiores a 1800 °C. Sendo assim, a temperatura de 1700°C foi selecionada para o método, evitando o uso de temperaturas mais elevadas sem que haja o aumento na

sensibilidade e além disso possibilitando o aumento da vida útil do tubo de grafite que será submetido a temperatura de atomização menor.

Através das Figuras 2.3 e 2.4 também foi possível observar que o comportamento térmico do Cd na pirólise e na atomização foi semelhante àquele apresentado pela solução aquosa, esses resultados indicaram que o Cd não sofreu influência de qualquer componente presente na matriz e nem do HCl proveniente do meio extrator. A Tabela 2.8 apresenta as condições otimizadas para o programa de aquecimento do GF AAS na determinação de Cd em fertilizantes fosfatados.

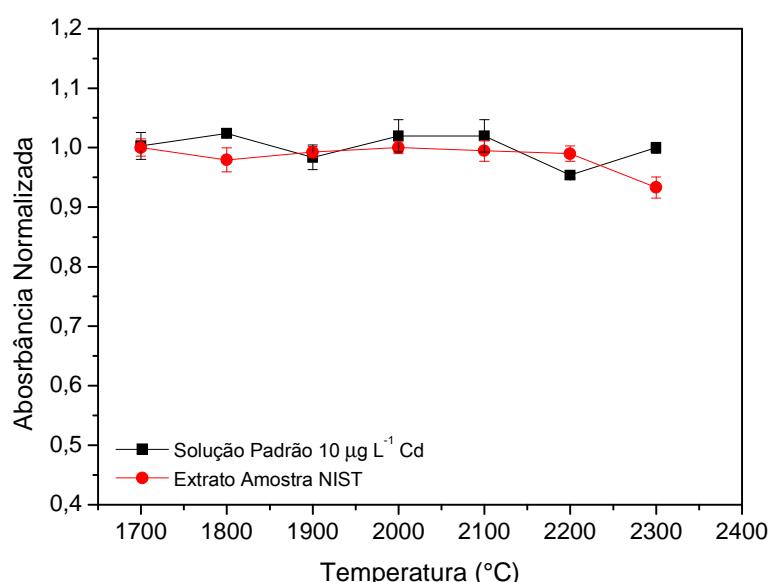


Figura 2.4. Curva de atomização obtida para determinação de Cd por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TP 250°C.

Tabela 2.8. Programa de temperatura otimizado na determinação de Cd em fertilizantes fosfatados utilizando tubo modificado com paládio.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de Ar (mL min⁻¹)
Secagem	85	5,0	-	300
	95	40,0	-	300
	120	10,0	-	300
Pirólise	250	5,0	3,0	300
Atomização	1700	1,0	2,0	0
Limpeza	2000	2,0	-	300

2.4.1.2. Otimização do programa de temperatura na determinação de Pb

A otimização do programa de temperatura na determinação de Pb seguiu a mesma sequência utilizada na otimização do programa de temperatura de Cd, triagem dos dois melhores modificadores permanentes, realização do planejamento fatorial 2^3 e construção das curvas de pirólise e atomização.

Na Tabela 2.9 estão apresentados os resultados para os diferentes modificadores permanentes. Os modificadores que apresentaram melhores resultados foram nióbio e titânio, que foram utilizados na composição do planejamento fatorial, cuja matriz dos experimentos, bem como os resultados estão apresentados na Tabela 2.10. Esses modificadores foram utilizados em trabalhos na determinação de Pb por GFAAS. No método desenvolvido por Soares & Nascentes (2013) o nióbio foi utilizado como modificador permanente em associação com paládio como modificador químico na análise de amostras de batons. Já o titânio foi utilizado como modificador permanente na análise de amostras de mandiocas provenientes do estado de Minas Gerais (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Tabela 2.9. Estudo dos modificadores na determinação de Pb em fertilizantes fosfatados por GF AAS.

Modificador Permanente	Absorbância Integrada
Irídio	$0,1933 \pm 0,0019$
Nióbio	$0,2758 \pm 0,0040$
Paládio	$0,1976 \pm 0,0135$
Ródio	$0,1799 \pm 0,0040$
Tântalo	$0,2300 \pm 0,0066$
Titânio	$0,2334 \pm 0,0031$
Zircônio	$0,1553 \pm 0,0071$
Sem Modificador	$0,1972 \pm 0,0072$

Por meio do gráfico de Pareto (Figura 2.5) foi observado que todas as variáveis principais apresentaram efeito significativo sob a resposta de absorbância do Pb. O efeito do modificador apresentou sinal negativo, indicando que o tubo modificado com nióbio

apresentou melhor sinal para o Pb, sendo portanto escolhido para continuidade dos experimentos. Somente a interação entre o modificador e a temperatura de atomização foi significativa, entretanto esse efeito foi menor do que os observados para os efeitos das variáveis principais.

O efeito para a temperatura de pirólise foi negativo, ou seja, há uma tendência de aumento no sinal analítico com a diminuição da temperatura. Já o efeito para a temperatura de atomização foi positivo. Como não houve interação significativa entre esses parâmetros, a otimização dessas variáveis foi realizadas de forma univariada.

Tabela 2.10. Resultados obtidos para o planejamento factorial 2^3 para determinação de Pb.

Experimento	TA(°C)	TP (°C)	Modificador	Absorbância Integrada
1	2000	400	Nb	0,2988 ±0,0098
2	2500	400	Nb	0,3020 ±0,0036
3	2000	600	Nb	0,2726 ±0,0068
4	2500	600	Nb	0,2653 ±0,0033
5	2000	400	Ti	0,2409 ±0,0038
6	2500	400	Ti	0,2507 ±0,0051
7	2000	600	Ti	0,2125 ±0,0075
8	2500	600	Ti	0,2364 ±0,0099

Na Figura 2.6 está apresentada a curva de pirólise obtida na determinação de Pb, foi estudada a faixa de temperatura entre 200° e 600°C. Os sinais analíticos apontaram para ligeira queda na sensibilidade com o aumento da temperatura, ou seja, o Pb tende a ser volatilizado com temperatura acima de 500°C, sendo assim visando garantir o integridade do analito até a etapa de atomização foi selecionada a temperatura de 400°C para a pirólise. Esse mesmo comportamento foi observado para a solução aquosa de Pb.

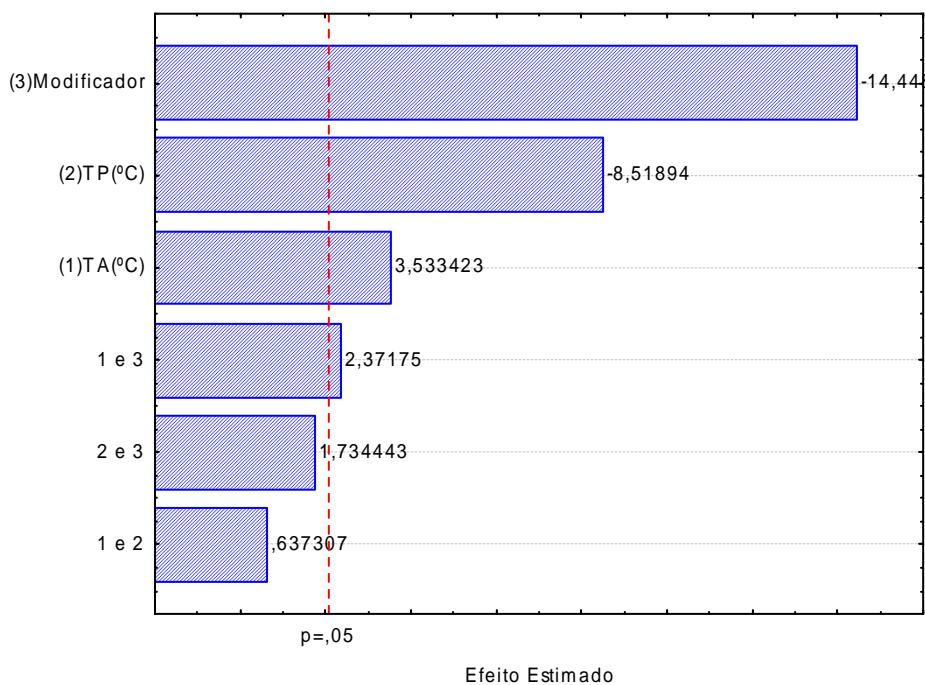


Figura 2.5. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial na determinação de Pb.

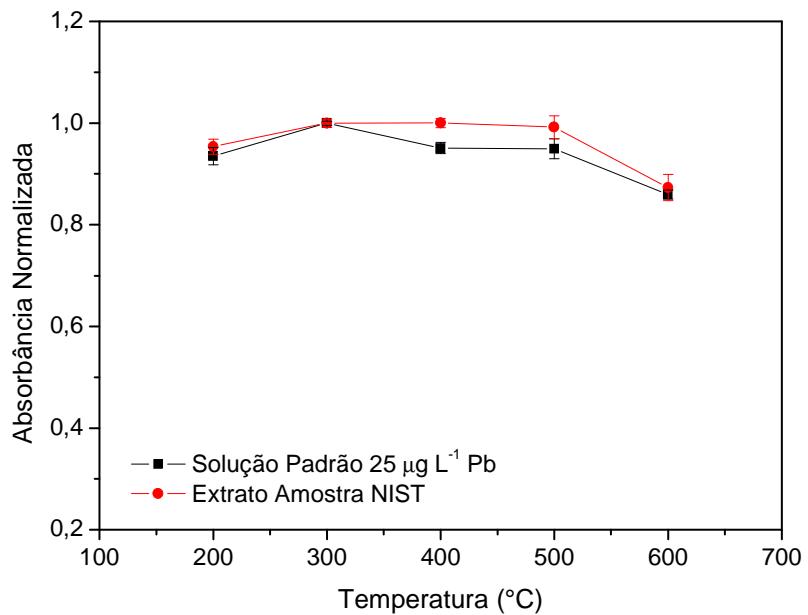


Figura 2.6. Curva de pirólise obtida para determinação de Pb por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TA 2500°C.

A temperatura de atomização na determinação de Pb foi avaliada na faixa de 2000 a 2600°C, apesar do planejamento fatorial ter indicado que temperaturas maiores favorecem o sinal analítico, foi avaliado somente 100°C acima da temperatura avaliada no planejamento fatorial, uma vez que a magnitude do efeito apresentado por essa variável foi baixa.

A Figura 2.7 apresenta os valores obtidos para o estudo da temperatura de atomização. Na faixa estudada a magnitude do sinal foi quase constante para o extrato da amostra, indicando que a máxima eficiência de atomização pode ser atingida nesta faixa, portanto foi selecionada a temperatura de 2100°C como ótima para o programa de aquecimento, não havendo a necessidade de submeter o tubo de grafite a temperaturas muito drásticas como 2600°C.

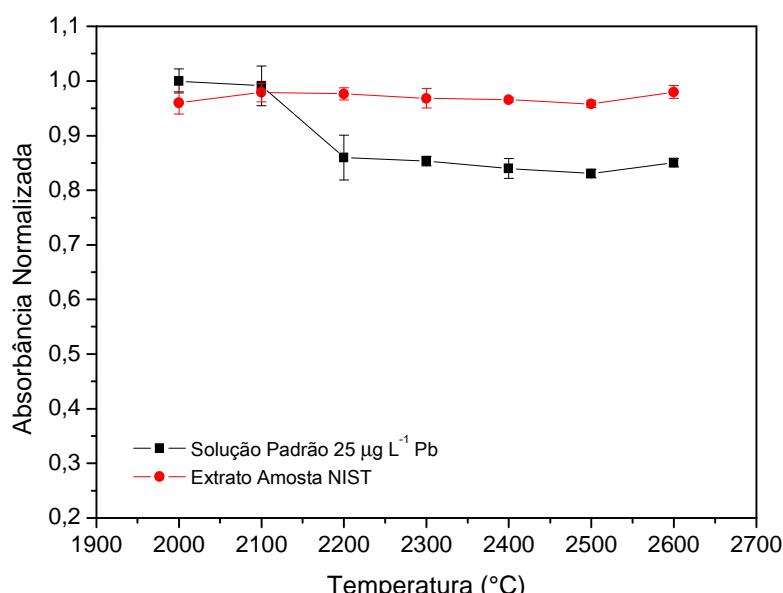


Figura 2.7. Curva de atomização obtida para determinação de Pb por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TP 400°C.

A Tabela 2.11 mostra as condições otimizadas para o programa de aquecimento do GF AAS na determinação de Pb em fertilizantes fosfatados, esses valores foram conforme os recomendados pelo fabricante.

Tabela 2.11. Programa de temperatura otimizado na determinação de Pb em fertilizantes fosfatados utilizando tubo modificado com nióbio.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de Ar (mL min ⁻¹)
Secagem	85	5,0	-	300
	95	40,0	-	300
	120	10,0	-	300
Pirólise	400	5,0	3,0	300
Atomização	2100	1,0	2,0	0
Limpeza	2200	2,0	-	300

2.4.1.3. Otimização do programa de temperatura na determinação de Cr

A otimização do programa de temperatura na determinação de Cr seguiu a mesma sequência inicial utilizada na otimização do programa de temperatura de Cd e Pb, triagem dos dois melhores modificadores permanentes e realização do planejamento fatorial 2³.

Os tubos de grafite modificados com paládio e zircônio foram os que apresentaram melhor sinal analítico como pode ser observado pela Tabela 2.12. Pereira e colaboradores (2006), avaliaram o uso de modificadores permanentes na análise Cd, Cr e Pb em sedimentos marinhos e o zircônio dentre os modificadores avaliados apresentou melhor resultado na determinação de Cr.

Tabela 2.12. Estudo dos modificadores na determinação de Cr em fertilizantes fosfatados por GF AAS.

Modificador Permanente	Absorbância Integrada
Irídio	0,0466 ± 0,0019
Nióbio	0,2318 ± 0,0049
Paládio	1,1330 ± 0,0014
Ródio	0,4153 ± 0,0051
Tântalo	0,4446 ± 0,0042
Titânio	0,4073 ± 0,0061
Zircônio	0,6577 ± 0,0073
Sem Modificador	0,0624 ± 0,0032

Na sequência do procedimento de otimização foi realizado um planejamento fatorial cuja a matriz dos experimentos e os resultados estão apresentados na Tabela 2.13.

Tabela 2.13. Resultados obtidos para o planejamento fatorial 2^3 para determinação de Cr.

Experimento	TA(°C)	TP (°C)	Modificador	Absorbância Integrada
1	2000	800	Zr	0,1929 ± 0,0048
2	2400	800	Zr	0,5338 ± 0,0211
3	2000	1200	Zr	0,2080 ± 0,0075
4	2400	1200	Zr	0,4864 ± 0,0049
5	2000	800	Pd	0,4154 ± 0,0206
6	2400	800	Pd	0,8626 ± 0,0171
7	2000	1200	Pd	0,3309 ± 0,0086
8	2400	1200	Pd	0,7612 ± 0,0093

No gráfico de Pareto obtido (Figura 2.8) foi observado que todas as variáveis na faixa estudada apresentaram efeitos significativos, bem como suas interações de segunda ordem. Entretanto, uma das informações mais importantes que pode ser obtida pela análise do gráfico de Pareto foi que as interações entre as variáveis também foram significativas, indicando que uma avaliação individual das variáveis (otimização univariada) não é adequada para o método uma vez que esse tipo de otimização não fornece informações sobre interações.

O efeito positivo para o modificador permanente indica que a sensibilidade do método é melhorada com o uso do modificador de paládio e por isso este será mantido para as próximas análises. A variável temperatura de atomização apresentou maior efeito sobre o sinal analítico, indicando que temperaturas menores não ocorre a atomização eficiente do Cr. Já a temperatura de pirólise exerceu um efeito negativo no sinal analítico, ou seja, com o

aumento da temperatura ocorre a volatilização de parte do analítico diminuindo assim a sensibilidade do método.

Já para as interações secundárias observadas no diagrama de Pareto, a que apresentou maior significância foi a interação entre a temperatura de atomização e o tipo de modificador, que foi positiva, ou seja, ao seguir a tendência determinada pelo efeito principal nas duas variáveis, o resultado é favorável. A interação entre as temperaturas de pirólise e atomização apresentou efeito significativo e negativo. E apesar de ser em menor grau de significância a otimização desses parâmetros foi realizada por um método multivariado.

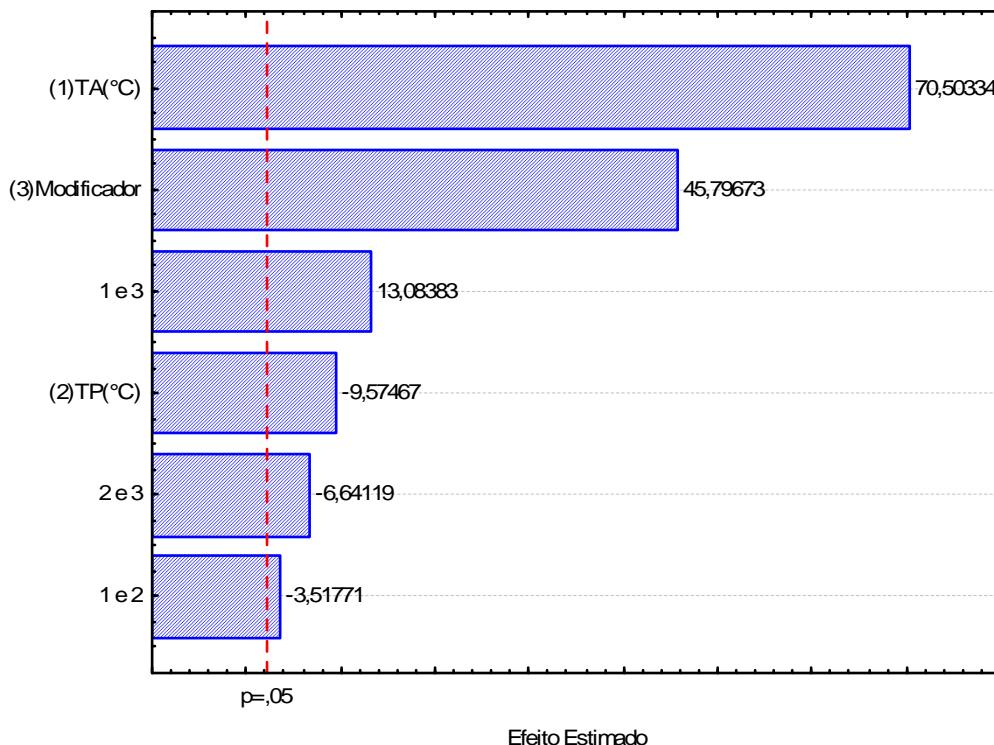


Figura 2.8. Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial na determinação de Cr.

Tendo por base os resultados obtidos para o comportamento das variáveis através do planejamento fatorial, a otimização do método foi realizada através da metodologia de superfície de resposta, utilizando um planejamento composto central, para as variáveis temperatura de pirólise e de atomização. A matriz do CDD contendo os resultados está apresentada na Tabela 2.14.

Tabela 2.14. Resultados obtidos para o planejamento composto central na otimização da determinação de Cr.

Experimento	TA(°C)	TP (°C)	Absorbância Integrada
1	300 (-)	2500 (-)	1,2664
2	300 (-)	2700 (+)	1,6806
3	500 (+)	2500 (-)	0,9534
4	500 (+)	2700 (+)	1,6316
5	258 (-1,41)	2600 (0)	1,5876
6	541 (1,41)	2600 (0)	1,6388
7	400 (0)	2458 (-1,41)	0,9825
8	400 (0)	2741 (1,41)	2,0474
9	400 (0)	2600 (0)	1,8638
10	400 (0)	2600 (0)	1,8196
11	400 (0)	2600 (0)	1,7518
12	400 (0)	2600 (0)	1,8738
13	400 (0)	2600 (0)	1,8688

A partir dos resultados dos experimentos da matriz do planejamento composto central, foi possível obter a relação das interações entre os fatores escolhidos sob um modelo quadrático, gerando a superfície de resposta apresentada na Figura 2.9. Essa superfície de resposta é representada por uma equação quadrática, cujo ponto de máximo corresponde às condições ótimas, que é o ponto onde a derivada da função da superfície é igual a zero.

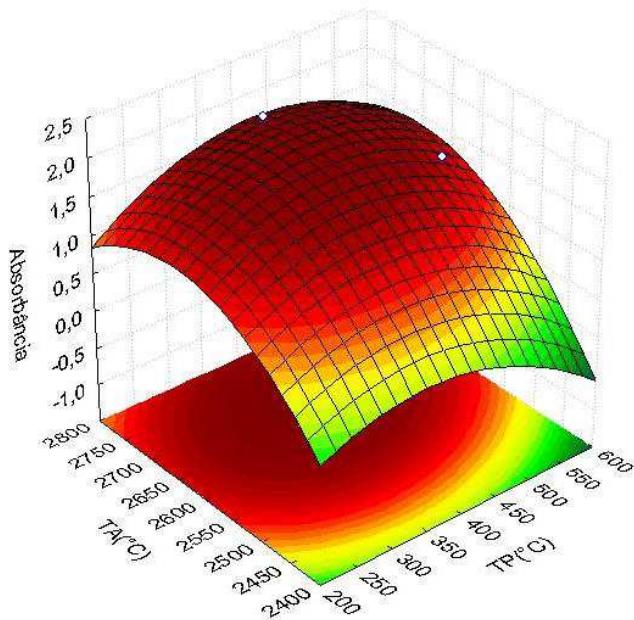


Figura 2.9. Superfície de resposta obtida na otimização final das temperaturas de pirólise e atomização, para determinação de Cr.

$$\text{Abs} = -141,06964 - 0,00501 \text{ TP} - 1,56447 \cdot 10^{-5} \text{ TP}^2 + 0,10750 \text{ TA} - 2,05572 \cdot 10^{-5} \text{ TA}^2 + 6,60062 \cdot 10^{-6} \text{ TA} \cdot \text{TP}$$

Desta forma, aplicando o critério de Lagrange à equação foi possível verificar que a superfície possui um máximo, correspondendo às temperaturas de pirólise de 405°C e de atomização de 2680°C. A Tabela 2.15 mostra as condições otimizadas para o programa de aquecimento do GF AAS na determinação de Cr em fertilizantes fosfatados.

Tabela 2.15. Programa de temperatura otimizado na determinação de Cr em fertilizantes fosfatados utilizando tubo modificado com paládio.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de Ar (mL min ⁻¹)
Secagem	85	5,0	-	300
	95	40,0	-	300
	120	10,0	-	300
Pirólise	405	5,0	3,0	300
Atomização	2680	1,0	2,0	0
Limpeza	2700	2,0	-	300

Para fins de comparação, foram construídas curvas de pirólise e atomização para verificar o comportamento térmico do extrato obtido do material certificado em relação a solução aquosa. Nas Figuras 2.10 e 2.11, podem ser observado os perfis das curvas de pirólise e atomização, respectivamente.

Os valores de temperatura ótimas obtidas para as temperaturas de pirólise e atomização foram coincidente com os dois meios utilizados, entretanto foi observado uma diferença no perfil da curva de pirólise. A volatilização do Cr presente no extrato ocorreu em temperaturas menores que as observadas para a solução aquosa. Como pode ser visto, a volatilização do Cr no extrato já é notada a partir da temperatura de 600°C. Em contra partida para a solução aquosa só foi observada uma volatilização mais drástica a partir da temperatura de 1000°C. Este fenômeno pode estar associado a presença do HCl nos extratos, que influencia o comportamento do Cr, uma vez que o Cl tende a se volatilizar e atomizar em temperaturas baixas. Este estudo evidencia a importância de realizar a calibração do método com soluções que tenham a mesma composição do meio de extração, a fim de evitar a interferência da matriz nas medições, especialmente na determinação de Cr (PAULA *et al.*, 2013).

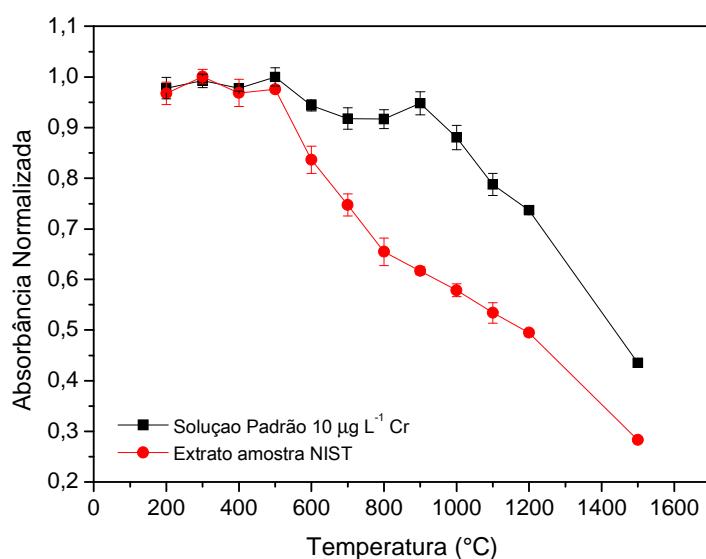


Figura 2.10. Curva de pirólise obtida para determinação de Cr por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TA 2600°C.

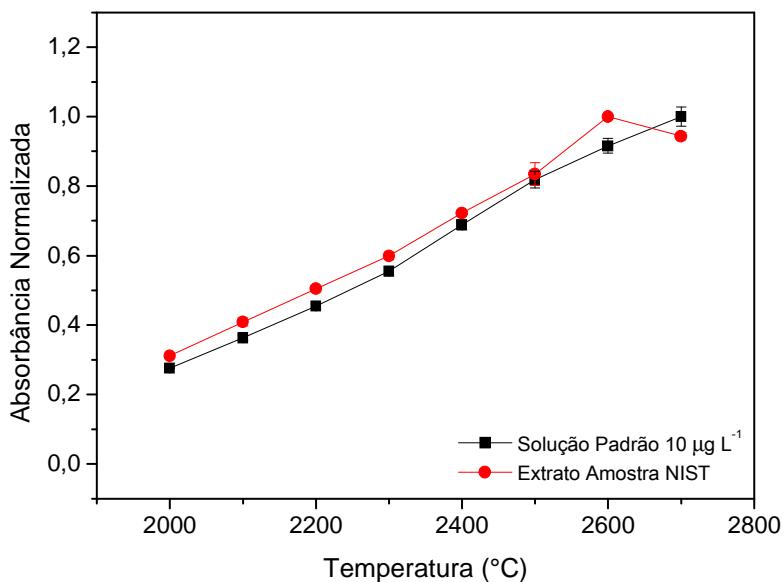


Figura 2.11. Curva de atomização obtida para determinação de Cr por GF AAS em fertilizantes fosfatados. Condição: TP 400°C.

2.4.2 Efeito de Matriz

Após os métodos de leitura terem sido otimizados, foi realizado o teste de efeito de matriz, para avaliar a presença de possíveis interferências ocasionadas pela presença de concomitantes presentes nas amostras e assim, inferir sobre o método de calibração mais apropriado para realização da calibração analítica. Esse teste foi realizado antes da otimização do procedimento de extração, uma vez que o mesmo seria realizado com extratos do material certificado por meio dos valores reais de extração e, para isso seria necessário a construção de curvas analíticas dos metais em estudo.

Sendo assim foram construídas curvas analíticas por padrões externos e por ajuste de matriz, que estão apresentadas nas Figuras de 2.12 a 2.14, juntamente com a média das curvas analíticas obtidas e os coeficientes de correlação linear, que foram superiores a 0,99.

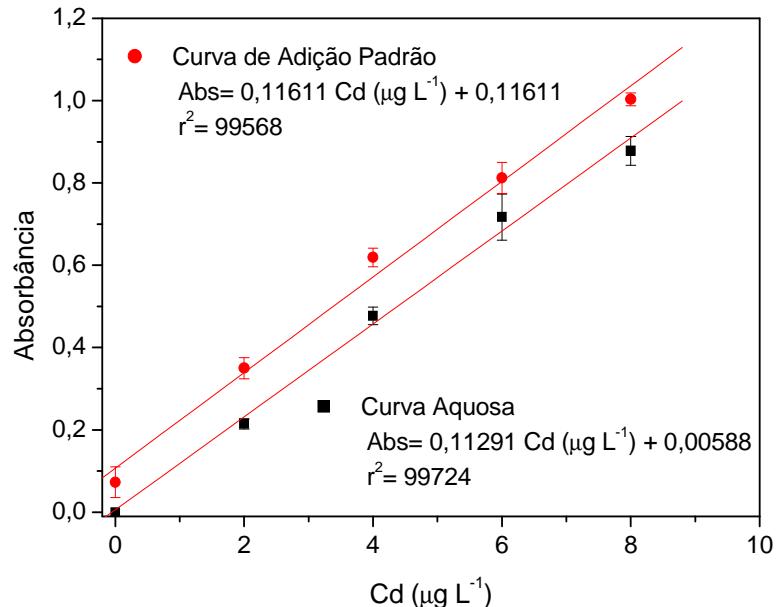


Figura 2.12. Curvas de calibração em meio aquoso e por ajuste de matriz, para determinação de Cd em fertilizante fosfatado por GF AAS.

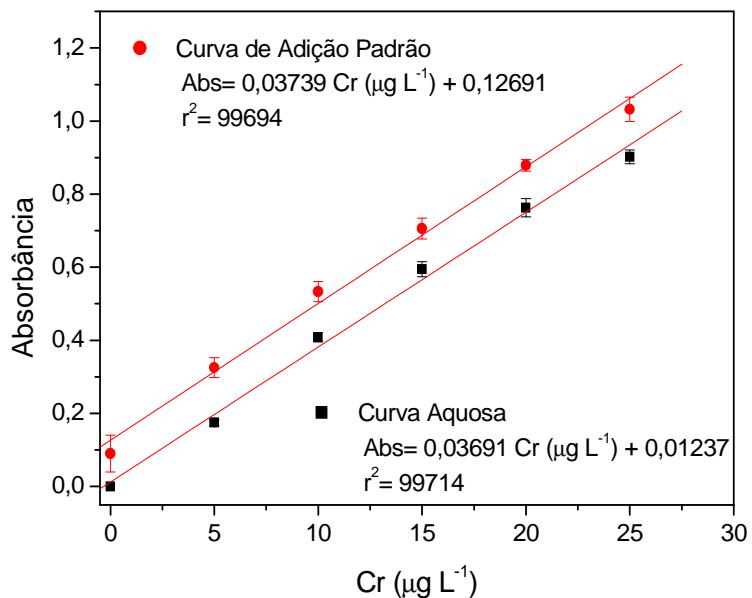


Figura 2.13. Curvas de calibração em meio aquoso e por ajuste de matriz, para determinação de Cr em fertilizante fosfatado por GF AAS.

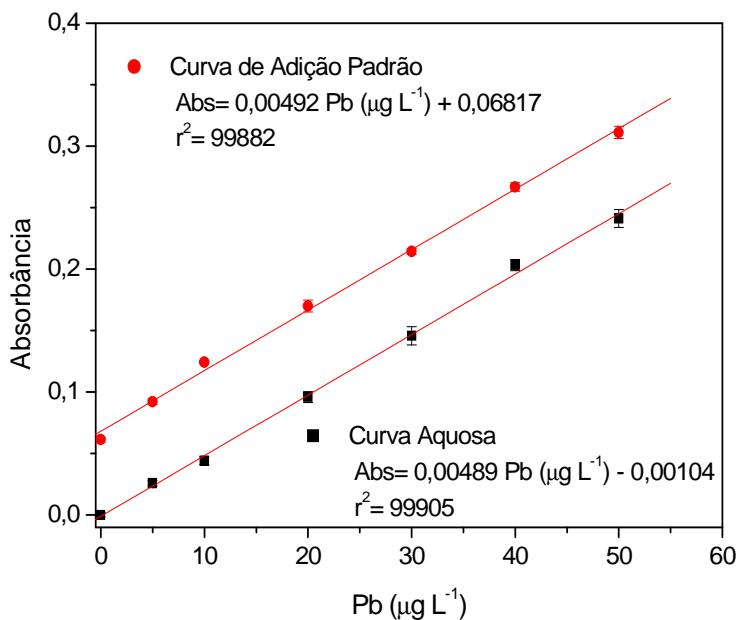


Figura 2.14. Curvas de calibração em meio aquoso e por ajuste de matriz, para determinação de Pb em fertilizante fosfatado por GF AAS.

O efeito de matriz foi estudado por meio da avaliação dos coeficientes angulares obtidos na calibração externa e por ajuste de matriz, através da aplicação do teste F e teste t, os resultados estão apresentados na Tabela 2.16. Como pode ser observado os valores de $F_{calculado}$ foram menores que os valores de $F_{tabelado}$, indicando que as variâncias das inclinações podem ser consideradas iguais, ou seja, a matriz não tem um efeito importante sobre a precisão do método na faixa de concentração estudada e, portanto para realização do teste t os desvios-padrões podem ser agrupados.

Também pode ser observado pela Tabela 2.16 que os valores de $t_{calculado}$ foram menores que o $t_{tabelado}$, concluindo assim que não houve diferença significativa entre a relação linear dos dois meios de calibração, para os metais em estudo. Portanto a matriz não afeta o sinal analítico e, desta forma a calibração externa pode ser utilizada na realização da quantificação dos metais em estudo.

Tabela 2.16. Valores dos parâmetros F e t para as curvas analíticas obtidas no estudo do efeito de matriz.

Metais	F calculado	t calculado
Cádmio	10,02	1,05
Chumbo	1,04	1,34
Cromo	1,36	1,63

F_{tabelado}: 19,0 t_{tabelado}: 2,132 95% de confiança para n=2

2.4.3 Otimização do procedimento de extração

Para o preparo das amostras foi avaliado um procedimento de extração utilizando ácido nítrico e clorídrico diluído, bem como o uso da energia ultrassônica. Como experimento de triagem foi realizado um planejamento fatorial 2³ com pontos centrais. Os resultados obtidos nessa avaliação estão apresentados na Tabela 2.17.

Tabela 2.17. Resultados obtidos para o planejamento fatorial 2³ com ponto central na extração de Cd, Pb e Cr de fertilizantes fosfatados.

Experimento	HNO ₃ (mol L ⁻¹)	% Triton X-114 (m/v)	Tempo de Sonicação (min)	% Extração		
				Cd	Pb	Cr
1	0,0	0,0	0,0	2,42	1,02	0,77
2	1,0	0,0	0,0	99,35	96,64	51,22
3	0,0	1,0	0,0	81,86	82,13	79,87
4	1,0	1,0	0,0	101,42	102,35	100,74
5	0,0	0,0	30	5,39	1,19	1,16
6	1,0	0,0	30	98,03	97,77	51,11
7	0,0	1,0	30	81,13	83,32	95,94
8	1,0	1,0	30	102,81	98,57	102,86
PC	0,5	0,5	15	100,82	87,70	80,63
PC	0,5	0,5	15	99,62	86,84	79,70
PC	0,5	0,5	15	99,57	88,13	80,37

Como pode ser observado nos resultados de extração obtidos no planejamento factorial foi possível identificar algumas condições em que as extrações foram efetivas, ou seja, com valores bem próximos a 100%. Desta forma, com a finalidade de obter informações sobre a influência das variáveis sobre a extração dos metais e os níveis dos fatores que produzirão o conjunto de respostas mais satisfatório, os mesmos foram tratados simultaneamente, através das funções de desejabilidade. Para isso, os valores de extração apresentados na Tabela 2.17 foram convertidos em desejabilidade individual, utilizando a equação 3. Os valores de desejabilidade individual obtidos foram utilizados para a obtenção dos valores de desejabilidade global, conforme a equação 5. Os resultados de extração em função da desejabilidade individual e global estão apresentados na Tabela 2.18.

Tabela 2.18. Desejabilidades individuais e global obtidas pela aplicação das funções de desejabilidade.

Experimento	Desejabilidade Individual (d_i)			Desejabilidade Global (D)
	Cd	Pb	Cr	
1	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,97	0,94	0,50	0,77
3	0,79	0,80	0,78	0,79
4	0,99	1,00	0,98	0,99
5	0,03	0,00	0,00	0,01
6	0,95	0,95	0,49	0,77
7	0,78	0,81	0,94	0,84
8	1,00	0,96	1,00	0,99
PC	0,98	0,86	0,79	0,87
PC	0,97	0,85	0,78	0,86
PC	0,97	0,86	0,78	0,87

Os dados experimentais foram processados utilizando o programa Statistica ® e foram obtidos os perfis de desejabilidade conforme apresentado na Figura 2.15. Os gráficos da última coluna mostram os perfis de desejabilidade individuais das respostas analíticas, com as faixas da resposta de desejabilidade aceitável ($0 \leq d_i \leq 1$). Todos os gráficos apresentaram

inclinação ascendente, uma vez que o objetivo da modelagem foi maximizar os valores de extração e que os valores previstos de extração estão próximos ao esperado.

Os gráficos das linhas 1 a 3, exceto da última coluna, mostram como as respostas variam em cada variável, enquanto as outras variáveis são mantidas constantes. Como pode ser observado nos gráficos da 1^a coluna, a variável concentração de HNO₃ apresentou efeito sobre a resposta analítica na extração de todos os metais, isso pode ser visto pelas inclinações das retas.

Já a variável concentração de HCl apresentou maior efeito sobre a extração de Cr, observado pela inclinação mais pronunciada da reta. A influência desta variável na extração de Cd e Pb apresentou menos significância quando comparada ao Cr. Este efeito pode ser devido a complexação de íons cloreto com os íons metálicos, o que pode favorecer a solubilização do Cr, e também a possível formação de cloreto nitroso (NOCl), espécies que apresenta alto poder oxidante (TEIXEIRA *et al.*, 2014).

Em relação a variável tempo de sonicação pode-se inferir que as extrações não são afetadas pela variação no tempo de sonicação, uma vez que praticamente não se observa inclinações nos gráficos desta variável.

Os gráficos da última linha representam os perfis de desejabilidade global, as linhas tracejadas em vermelho na vertical, indicam as condições de máxima desejabilidade global, onde as concentrações dos ácidos nítrico e clorídrico, devem ser mantidas no nível alto (+1), ou seja, 1,0 mol L⁻¹ e o tempo de sonicação no nível 0,25 correspondendo a um tempo de 7,5 minutos. Nessas condições, a desejabilidade global atingida foi de 1,00, como mostrado pela linha azul tracejada.

Os gráficos de desejabilidade global para as concentrações de HNO₃ e HCl, demonstram que esses fatores podem variar em uma faixa pequena de concentração sem causar um grande variação no valor da desejabilidade global. E o gráfico do tempo de sonicação indica que na faixa estudada, este pode ser mantido praticamente em qualquer nível, não afetando drasticamente a resposta global.

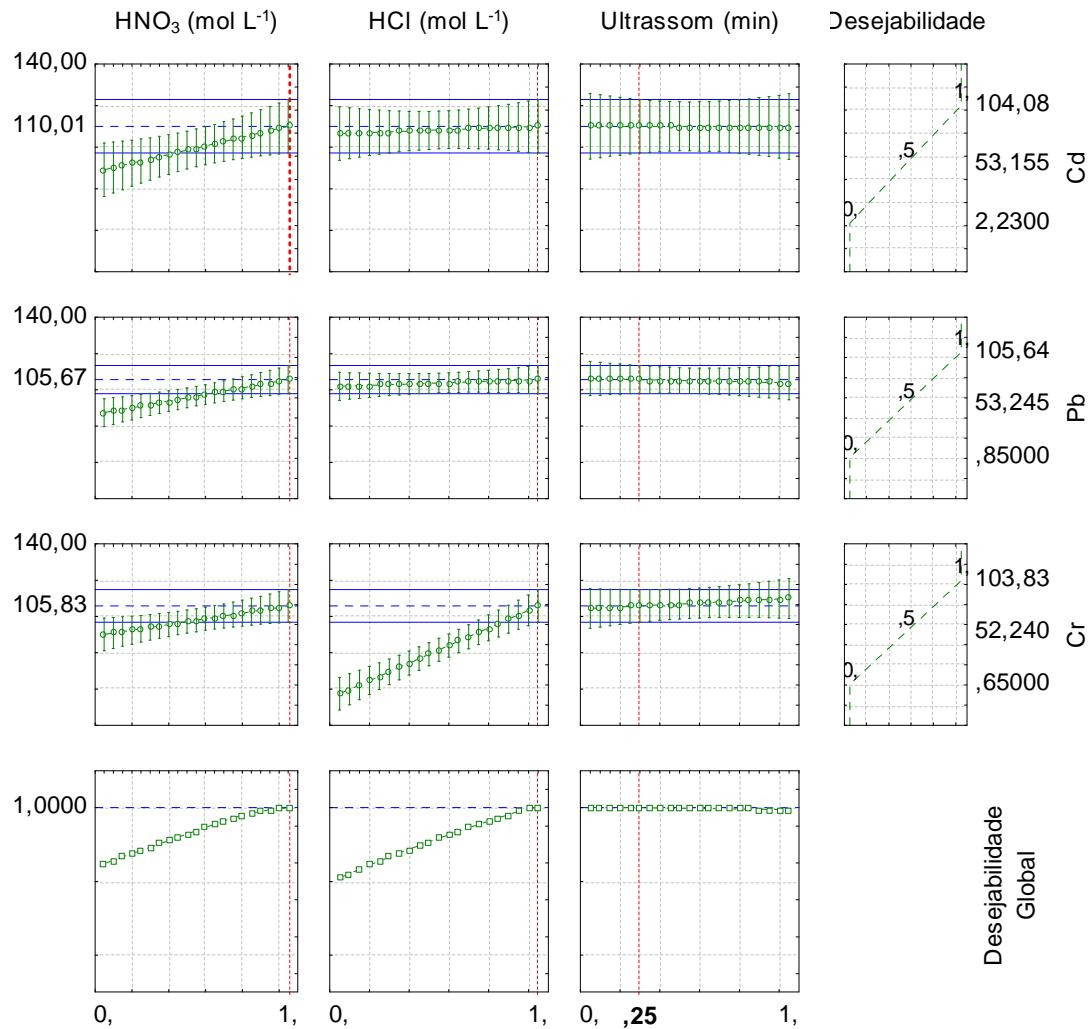


Figura 2.15. Perfis dos valores previstos e de deseabilidade.

A fim de comparar os dados obtidos pelos perfis de deseabilidade foi construído um gráfico de Pareto utilizando como sinal analítico a deseabilidade global, que está apresentado na Figura 2.16. A variável que apresentou maior efeito significativo e positivo foi a concentração de HCl, e isso pode ser atribuído à grande influência que esta variável exerce sobre a extração de cromo, como observado no gráfico do perfil de deseabilidade. O efeito da concentração de HNO_3 também foi significativo, que como observado exerce influência sobre a extração de todos os metais. Foi verificado também que não houve interação significativa entre as variáveis. A variável tempo de sonicação não apresentou efeito significativo, como esperado e dessa forma, como o perfil de deseabilidade global indicou um tempo de

sonicação de 7,5 minutos para extração dos metais, optou-se por manter essa variável para garantir uma homogeneização efetiva dos ácidos frente as amostras.

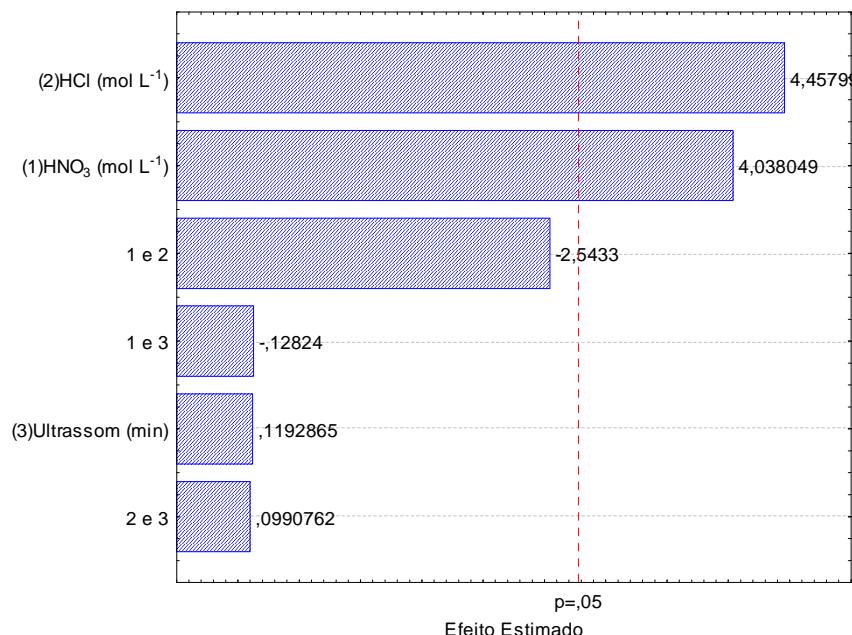


Figura 2.16. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis sobre a extração de Cd, Pb e Cr utilizando deseabilidade global como resposta analítica.

No trabalho desenvolvido por Teixeira *et al.* (2014), foi avaliado um procedimento de extração de metais, dentre os quais foram avaliados a extração de Cd, Pb e Cr, em fertilizantes orgânicos utilizando uma mistura dos ácidos (HNO₃, HCl e HF) e sonda ultrasônica. A otimização multivariada foi utilizada para estabelecer as condições ideais para o processo de extração, incluindo as variáveis extrator (HNO₃ e HNO₃/HCl), volume de HF (0 e 100 µL), volume do extrator (1 e 1,5 mL), tempo de sonicação (10 e 20 min) e amplitude da sonicação (40 e 60 %), e os resultados observados pelos autores foram condizentes com os observados neste trabalho em que os fatores da sonda ultrasônica não foram significantes no processo de extração na faixa estudada, sendo a presença do HF e a mistura de HNO₃ e HCl essenciais no procedimento de extração. Além disso, foi verificado pelos autores que o metal que sofreu maior influência sobre composição do extrator foi o Cr, isso pode ser um indício de que este metal está mais fortemente ligado a matriz da amostra.

Deng *et al* (2009) avaliaram também um procedimento de extração de metais (Cu, Zn e Pb) a partir de lodo de esgoto utilizando ácido nítrico e ultrassom. Através dos resultados

obtidos foi concluído que o uso do ultrassom por si só não é eficaz para remoção dos metais das amostras e que o ácido nítrico desempenhou papel predominante sobre o processo de extração. Foi constatado também que o ultrassom somente exerceu uma função sinérgica frente ao ácido nítrico, quando usados em conjunto para extração do metais em estudo.

2.4.4. Características analíticas e aplicação do método proposto

Após realizar a otimização do método proposto, foram determinadas algumas figuras de mérito na determinação de Cd, Pb e Cr em fertilizantes fosfatados. A Tabela 2.19 apresenta os valores obtidos utilizando a metodologia proposta, os quais foram obtidos conforme apresentado no item 2.3.7.

O método apresentou desvios padrões relativos menores do que 5% para os metais estudados, demonstrando apresentar reproduzibilidade adequada na realização das análises. Os valores dos limites de LD e LQ foram compatíveis com a técnica de GF AAS. Enfatizando que os limites de quantificação foram muitos menores que os níveis máximos estabelecidos pelo Ministério da Agricultura para concentração de Cd, Pb e Cr em fertilizantes fosfatados.

Os valores de massa característica foram adequados para o método, pois apresentou valores próximos aos recomendados pelo fabricante que são de 0,2, 5,5 e 1,5 para Cd, Pb e Cr, respectivamente. Esses valores indicados pelo fabricante são obtidos em condições ideais em que a calibração é realizada em meio aquoso, com reagente ultrapuros e em equipamentos recém fabricados.

A exatidão das metodologias foi avaliada por meio da análise do material certificado NIST 695 e também por comparação do método proposto para o preparo das amostras com um método de digestão em bloco digestor, os resultados estão apresentados na Tabela 2.20.

Os resultados obtidos para os dois métodos de preparo de amostras foram comparados com os valores certificados mediante a aplicação de testes estatísticos (teste F e teste t de student), e os valores encontrados para as concentrações dos metais no material de referência foram concordantes a um nível de 95% de significância com os valores certificados, o que atesta a boa exatidão da metodologia proposta.

Tabela 2.19. Figuras de mérito do método otimizado para determinação de Cd, Cr e Pb em fertilizantes fosfatados por GF AAS.

Parâmetros	Valor Obtido		
	Cádmio	Chumbo	Cromo
Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ - 6,0	LQ - 50,0	LQ - 25,0
Equação da curva	$\text{Abs} = 0,1129 \text{ X} + 0,0078$	$\text{Abs} = 0,00513 \text{ X} + 0,0112$	$\text{Abs} = 0,03637 \text{ X} + 0,0162$
R^2	0,9995	0,9971	0,9979
D.P.R.% (n= 7) ^a	2,37	4,01	3,04
LD ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	0,03	0,27	0,19
LQ ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	0,11	0,90	0,63
m_o (pg)	0,54	8,22	2,54

^a D.P.R calculados a partir de soluções de Cd 3,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, Pb 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Cr 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$

Tabela 2.20. Avaliação da exatidão do método, empregando material certificado SRM695 e por comparação entre o método proposto de extração com o método de digestão em bloco digestor.

Elemento	Valor Certificado	Método Digestão Total *	Método Proposto *
	(mg Kg^{-1})	(mg Kg^{-1})	(mg Kg^{-1})
Cd	$16,9 \pm 0,2$	$16,3 \pm 0,4$	$16,6 \pm 0,3$
Cr	244 ± 6	$249 \pm 3,5$	$243 \pm 5,5$
Pb	273 ± 17	281 ± 10	268 ± 13

*Valores das médias de 5 extrações independentes

A metodologia desenvolvida foi aplicada na determinação das concentrações de Cd, Pb e Cr em amostras de fertilizantes fosfatados produzidos no estado de Minas Gerais, Brasil, e os resultados são apresentados na Tabela 2.21.

Tabela 2.21. Teores de Cd, Pb e Cr em fertilizantes fosfatados, obtidos pelo método proposto.

Amostras	Cd (mg Kg ⁻¹)	Pb (mg Kg ⁻¹)	Cr (mg Kg ⁻¹)
1	2,33 ± 0,13	6,42 ± 0,35	80,72 ± 1,82
2	< LQ	13,45 ± 0,75	128,54 ± 1,95
3	1,06 ± 0,05	4,62 ± 0,18	< LQ
4	3,75 ± 0,07	33,77 ± 1,45	63,4 ± 2,23
5	20,67 ± 0,22	48,33 ± 2,07	20,78 ± 1,08
6	22,89 ± 0,11	18,97 ± 0,78	75,56 ± 3,05

O teor de Cd encontrado nas amostras foi de <LQ a 22,89 mg Kg⁻¹. Esses valores estão de acordo com valores encontrados na literatura. Os níveis de Cd encontrados nos fertilizantes são amplos uma vez que esses teores dependem da rocha fosfática que originou o produto final. A análise de rochas fosfáticas oriundas de diferentes jazidas utilizadas na produção de fertilizantes fosfatados apresentou uma escala variada no teor de Cd que foi de 0,1 a 100 mg Kg⁻¹ (AL-SHAWI & DAHL, 1999).

Os valores encontrados de Pb, foram na faixa de 4,62 a 48,33 mg Kg⁻¹. Esses valores apresentam concordância com os valores encontrados para concentração de Pb em fertilizantes produzidos nos Estados Unidos que em um total de 262 amostras, 84% das amostras apresentaram valores menores que 20 mg Kg⁻¹, enquanto que o restante apresentaram valores superiores a 1700 mg Kg⁻¹ (JIAO *et al.*, 2012).

Cromo foi encontrado nas amostras analisadas na faixa de concentração de <LQ a 128,54 mg Kg⁻¹, valores concordantes com os encontrados por El-Sheikha *et al.* (2013) que analisaram o teor de Cr em rochas fosfáticas de jazidas da Jordânia que apresentaram concentrações na faixa de 29,1 a 122,0 mg Kg⁻¹.

Campos et al (2005) avaliaram o teor de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn em fosfatos de rochas nacionais e importados, e encontraram um teor médio de Cd de 8,7 mg Kg⁻¹ para amostras nacionais e de 77 mg Kg⁻¹ de Cd em amostras importadas, constatando que os fosfatos importados avaliados contêm aproximadamente nove vezes mais Cd que os fosfatos nacionais. Para análise de Pb foi observado uma média de concentração em torno de 35±15

mg Kg⁻¹, para as amostras nacionais e importadas, com exceção de duas amostras que apresentaram valores de aproximadamente 81±5 e 215±19 mg Kg⁻¹. Já os teores de Cr foram na faixa de 80±7 a 514±42 mg Kg⁻¹, para as amostras nacionais e importadas.

A legislação brasileira estabelece que os conteúdos permitidos de Cd, Pb e Cr são de 4,0 , 20,0 e 40,0 mg kg⁻¹ para cada ponto percentual do P₂O₅, respectivamente. Considerando o percentual médio de P₂O₅ presente no superfosfato simples que contém cerca de 18 - 20 %, pode-se considerar que todas as amostras analisadas estão de acordo com a legislação brasileira em relação aos teores de Cd, Pb e Cr.

Apesar dos valores de concentrações encontrados estarem dentro da legislação brasileira, deve-se considerar que esses metais possuem ação acumulativa no corpo humano e que ao longo do tempo são realizadas repetidas adubações nos solos. E, essa ação pode levar a um aumento da concentração destes metais no solo e, consequentemente elevar a taxa de transferência para as plantas.

2.5. CONCLUSÃO

O método de extração utilizando ácidos diluídos, foi eficiente na extração dos metais Cd, Cr e Pb dos fertilizantes fosfatados, sendo uma alternativa aos métodos clássicos que utilizam ácidos concentrados e altas temperaturas.

Os valores dos limites de quantificação da metodologia para determinação de Cd, Pb e Cr são menores que os valores máximos estabelecidos pela legislação do Brasil, o que permite empregar a metodologia para o monitoramento das concentrações desses elementos presentes nos fertilizantes fosfatados que são lançados diretamente no solo.

O uso da modificação permanente foi suficiente em garantir a determinação dos metais com correção adequada dos interferentes de matriz. As concentrações de Cd, Pb e Cr encontradas nas amostras de fertilizantes fosfatados comercializados no país, estão de acordo com valores reportados na literatura

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-SHAWI, A. W. & DAHL, R. The determination of cadmium and six other heavy metals in nitrate/phosphate fertilizer solution by ion chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 391, 35-42, **1999**.

ANAWAR, H. M. Arsenic speciation in environmental samples by hydride generation and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 88, 30–42, **2012**.

ANDA - Associação Nacional para Difusão de Adubos, disponível em: www.anda.org.br. Acesso em 23/01/2014.

ANDREAE, M.O.; ASMODE, J.F.; FOSTER, P.; VAN'TDACK, L. Determination of antimony(III), antimony(V), and methylantimony species in natural waters by atomic absorption spectrometry with hydride generation. *Analytical Chemistry*, 53, 1766–1771, **1981**.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), Orientação sobre validação de métodos analíticos. DOQ-CGCRE-008 - Revisão 04, **2011**.

ASHLEY, K.; ANDREWS, R.; CAVAZOS, L.; DEMANGE, M. Ultrasonic extraction as a sample preparation technique for elemental analysis by atomic spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16, 1147–1153, **2001**.

AYDIN, I.; AYDIN, F.; SAYDUT, A.; BAKIRDERE, E.G.; HAMAMCI, C. Hazardous metal geochemistry of sedimentary phosphate rock used for fertilizer (Mazıdag, SE Anatolia, Turkey). *Microchemical Journal*, 96, 247–251, **2010**.

AZEVEDO, S. V.; MOREIRA, F. R.; CAMPOS, R. C. Direct determination of tin in whole blood and urine by GF AAS. *Clinical Biochemistry*, 46, 123–127, **2013**.

BECKER, E. M.; DESSUY, M. B.; BOSCHETTI, W.; VALE, M. G. R.; FERREIRA, S. L. C.; WELZ, B. Development of an analytical method for the determination of arsenic in gasoline samples by hydride generation-graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, 71-72, 102–106, **2012**.

BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76, 965–977, **2008**.

BIANCHIN, J. N.; MIOR, R.; MARTENDAL, E.; CARLETTTO, J. S.; CARASEK, E. Otimização multivariada e aplicação do sorvente SiO₂-Nb₂O₅ para determinação em linha de Ni(II) em matriz aquosa. *Eclética Química*, 33, 25-32, **2008**.

BIANCHIN, L.; NADVORNY, D.; SILVA, A. F.; VALE, M. G. R.; SILVA, M. M.; SANTOS, W. N. L.; FERREIRA, S. L. C.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Feasibility of employing permanent chemical modifiers for the determination of cadmium in coal using slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 82, 174–182, **2006**.

BIZARRO, V. G.; MEURER, E. J.; TATSCH, F. R. P. Teor de cádmio em fertilizantes fosfatados comercializados no Brasil. *Ciência Rural*, 38, 247-250, **2008**.

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*, 66, 529–535, **2011**.

BRUULSEMA, T. W.; HEFFER, P.; WELCH, R. M.; CAKMAK, I.; MORAN, K. Introduction/Executive Summary em Fertilizing Crops to Improve Human Health: a Scientific Review 1 - 9, **2012**. ISBN: 978-0-9834988-0-3

CALLE, I.; CABALEIRO, N.; COSTAS, M.; PENA, F.; GIL, S.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Ultrasound-assisted extraction of gold and silver from environmental samples using different extractants followed by electrothermal-atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 97, 93–100, **2011**.

CALLE, I.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Analytical evaluation of a cup-horn sonoreactor used for ultrasound-assisted extraction of trace metals from troublesome matrices. *Spectrochimica Acta Part B*, 64, 874–883, **2009**.

CAMELO, L. G. L.; MIGUEZ, S. R.; MARBÁN, L. Heavy metals input with phosphate fertilizers used in Argentina. *The Science of the Total Environment*, 204, 245-250, **1997**.

CAMPILLO, N.; PEÑALVER, R.; VIÑAS, P.; LOPEZ-GARCIA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Speciation of arsenic using capillary gas chromatography with atomic emission detection. *Talanta*, 77, 793–799, **2008**.

CAMPOS, M. L.; SILVA, F. N.; FURTINI NETO, A. E.; GUILHERME, R. L. G.; MARQUES, J. J.; ANTUNES, A. S. Determinação de cádmio, cobre, cromo, níquel, chumbo e zinco em fosfatos de rocha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40, 361-367, **2005**.

CARBONELL, G.; IMPERIAL, R. M.; TORRIJOS, M.; DELGADO, M.; RODRIGUEZ, J. A. Effects of municipal solid waste compost and mineral fertilizer amendments on soil properties and heavy metals distribution in maize plants (*Zea mays* L.). *Chemosphere*, 85, 1614–1623, **2011**.

CARVALHO, V. G. B.; NASCIMENTO, C. W. A.; BIONDI, C. M. Potencial de Fertilizantes e corretivos no aporte de Micronutrientes ao solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36, 931-938, **2012**.

CAVA-MONTESINOS, P.; GUARDIA, A.; TEUTSCH, C.; CERVERA, M.; GUARDIA, M. Non-chromatographic speciation analysis of arsenic and antimony in milk hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 493, 195–203, **2003**.

CAVA-MONTESINOS, P.; NILLES, K.; CERVERA, M.; GUARDIA, M. Non-chromatographic speciation of toxic arsenic in fish. *Talanta*, 66, 895–901, **2005**.

CHEN, G. & CHEN, T. SPE speciation of inorganic arsenic in rice followed by hydride-generation atomic fluorescence spectrometric quantification. *Talanta*, 119, 202–206, **2014**.

CORREIA, C. L. T.; GONÇALVES, R. A.; AZEVEDO, M. S.; VIEIRA, M. A.; CAMPOS, R. C. Determination of total arsenic in seawater by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Microchemical Journal*, 96, 157–160, **2010**.

DAVIS, A. C.; CALLOWAY JR., C. P.; JONES, B. T. Direct determination of cadmium in urine by tungsten-coil inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using palladium as a permanent modifier. *Talanta*, 71, 1144–1149, **2007**.

DĚDINA, J. Interference of volatile hydride forming elements in selenium determination by atomic absorption spectrometry with hydride generation. *Analytical Chemistry*, 54, 2097–2102, **1982**.

DĚDINA, J. Atomization of volatile compounds for atomic absorption and atomic fluorescence spectrometry: On the way towards the ideal atomizer. *Spectrochimica Acta Part B*, 62, 846–872, **2007**.

DENG, J.; FENG, X.; QIU, X. Extraction of heavy metal from sewage sludge using ultrasound-assisted nitric acid. *Chemical Engineering Journal*, 152, 177–182, **2009**.

DERRINGER, G. & SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology*, 12, 214–219, **1980**.

DOBROWOLSKI, R.; ADAMCZYK, A.; OTTO, M. Comparison of action of mixed permanent chemical modifiers for cadmium and lead determination in sediments and soils by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 82, 1325–1331, **2010**.

DOBROWOLSKI, R.; ADAMCZYK, A.; OTTO, M. Determination of vanadium in soils and sediments by the slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using permanent modifiers. *Talanta*, 113, 19–25, **2013**.

DOBROWOLSKI, R.; ADAMCZYK, A.; OTTO, M.; DOBRZYSKA, J. Determination of antimony in sediments and soils by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using a permanent chemical modifier. *Spectrochimica Acta Part B*, 66, 493–499, **2011**.

DÖKER, S.; UZUN, L.; DENIZLI, A. Arsenic speciation in water and snow samples by adsorption onto PHEMA in a micro-pipette-tip and GFAAS detection applying large-volume injection. *Talanta*, 103, 123–129, **2013**.

DRAHOTA, P.; ROHOVEC, J.; FILIPPI, M.; MIHALJEVIĆ, M.; RYCHLOVSKÝ, P.; ČERVENÝ, V.; PERTOLD, Z. Mineralogical and geochemical controls of arsenic speciation and mobility under different redox conditions in soil, sediment and water at the Mokrsko-West gold deposit, Czech Republic. *Science of the Total Environment*, 407, 3372–3384, **2009**.

DRISTOZOV, D.; DOMINI, C. E.; KMETOV, V.; STEFANOVA, V.; GEORGIEVA, D.; CANALS, A. Direct ultrasound-assisted extraction of heavy metals from sewage sludge samples for ICP-OES analysis. *Analytica Chimica Acta*, 516, 187–196, **2004**.

D'ULIVO, A. Chemical vapor generation by tetrahydroborate(III) and other borane complexes in aqueous media - A critical discussion of fundamental processes and mechanisms involved in reagent decomposition and hydride formation. *Spectrochimica Acta Part B*, 59, 793-825, **2004**.

D'ULIVO, A. Mechanism of generation of volatile species by aqueous boranes Towards the clarification of most controversial aspects. *Spectrochimica Acta Part B*, 65, 360–375, **2010**.

D'ULIVO, A.; ONOR, M.; PITZALIS, E.; SPINIELLO, R.; LAMPUGNANI, L.; CRISTOFORIETTI, G.; LEGNAIOLI, S.; PALLESCHI, V.; SALVETTI, A.; TOGNONI E. Determination of the deuterium/hydrogen ratio in gas reaction products by laser-induced breakdown spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B*, 61, 797–802, **2006**.

EL-SHEIKH, A. H.; AL-DEGS, Y. S.; SWEILEH, J. A., SAID, A. J. Separation and flame atomic absorption spectrometric determination of total chromium and chromium (III) in phosphate rock used for production of fertilizer. *Talanta*, 116, 482–487, **2013**.

FAN, H.; WEN, H.; HU, R.; ZHAO, H. Selenium speciation in Lower Cambrian Se-enriched strata in South China and its geological implications, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75, 7725-7740, **2011**.

FENG, Y.; CHEN, H.; CHEN, H.; TIAN, L. Sequential determination of tin, arsenic, bismuth and antimony in marine sediment material by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using a small concentric hydride generator and L-cysteine as prereductant. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 361, 155–157, **1998**.

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; SILVA, E. G. P.; SANTOS, W. N. L.; QUINTELLA, C. M.; DAVID, J. M.; ANDRADE, J. B.; BREITKREITZ, M. C.; JARDIM, I. C. S. F.; BARROS NETO, B. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. *Journal of Chromatography A*, 1158, 2–14, **2007**.

FLORES, E. M. M.; NUNES, A. M.; DRESSLER, V. L.; DĚDINA, J. Multiple microflame quartz tube atomizer: Study and minimization of interferences in quartz tube atomizers in hydride generation atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, 64, 173–178, **2009**.

FRESCHI, G. P. G.; FRESCHE, C. D.; GOMES NETO, J. A. Evaluation of different rhodium modifiers and coatings on the simultaneous determination of As, Bi, Pb, Sb, Se and of Co, Cr, Cu, Fe, Mn in milk by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Microchimica Acta*, 161, 129–135, **2008**.

FROES, R. E. S; WINDMÖLLER, C. C.; SILVA, J. B. B. Emprego da modificação química permanente para a determinação de metais em matrizes diversas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. *Analytica*, 23, 32-43, **2006**.

GALAZZI, R. M. & ARRUDA, M. A. Z. Optimization of a hydride generation metallic furnace atomic absorption spectrometry (HG-MF-AAS) method for tin determination: Analytical and morphological parameters of a metallic atomizer. *Talanta*, 117, 543–548, **2013**.

GENG, W.; KOMINE, R., OHTA, T.; NAKAJIMA, T.; TAKANASHI, H.; OHKI, A. Arsenic speciation in marine product samples: Comparison of extraction–HPLC method and digestion–cryogenic trap method. *Talanta*, 79, 369-375, **2009**.

GHAMBARIAN, M.; KHALILI-ZANJI, M. R.; YAMINI, Y.; ESRAFILI, A.; YAZDANFAR, N. Preconcentration and speciation of arsenic in water specimens by the combination of solidification of floating drop microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 81, 197–201, **2010**.

GONZÁLVEZ, A.; LLORENS, A.; CERVERA, M. L.; ARMENTA, S.; GUARDIA, M. Non-chromatographic speciation of inorganic arsenic in mushrooms by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Food Chemistry*, 115, 360–364, **2009**.

GUILHEN, S. N.; PIRES, M. P. F.; KEIKO, E. S.; XAVIER, D. F. B. Validação de metodologia analítica para determinação de mercúrio total em amostras de urina por Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (CV AAS). Estudo de Caso. *Química Nova*, 33, 1285 - 1290, **2010**.

GUNDUZ, S. & AKMAN, S. Determination of lead in rice grains by solid sampling HR-CS GFAAS. *Food Chemistry*, 141, 2634–2638, **2013**.

GÜNGÖR, H. & ELIK, A. Comparison of ultrasound-assisted leaching with conventional and acid bomb digestion for determination of metals in sediment samples. *Microchemical Journal*, 86, 65–70, **2007**.

HADJMOHAMMADI, M. & SHARIFI, V. Simultaneous optimization of the resolution and analysis time of flavonoids in reverse phase liquid chromatography using Derringer's desirability function. *Journal of Chromatography B*, 880, 34–41, **2012**.

HARTLEY, T. N.; MACDONALD, A. J.; MCGRATH, S. P.; ZHAO, F. Historical arsenic contamination of soil due to long-term phosphate fertiliser applications. *Environmental Pollution*, 180, 259 - 264, **2013**.

HENDEN, E.; İŞLEK, Y.; KAVAS, M.; AKSUNER, N.; YAYAYÜRÜK, O.; ÇİFTÇİ, T. D.; İLKTAÇ, R. A study of mechanism of nickel interferences in hydride generation atomic absorption spectrometric determination of arsenic and antimony. *Spectrochimica Acta Part B*, 66, 793–798, **2011**.

HOLAK, W. Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic spectrophotometry. *Analytical Chemistry*, 41, 1712 - 1713, **1969**.

HOSICK, T. J.; INGAMELLS, R. L.; MACHEMER, S. D. Determination of tin in soil by continuous hydride generation and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 456, 263–269, **2002**.

ILANDER, A. & VÄISÄNEN, A. The determination of antimony and arsenic concentrations in fly ash by hydridegeneration inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 689, 178–183, **2011**.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. DOQ-CGCRE-008, Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos, **2003**.

JESUS, ROBSON. M.; SILVA, L. O. B.; CASTRO, J. T.; AZEVEDO NETO, A. D.; JESUS, RAILDO. M.; FERREIRA, S. L. C. Determination of mercury in phosphate fertilizers by cold vapor atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 106, 293–297, **2013**.

JIANG, H.; HU, B.; CHEN, B.; XIA, L. Hollow fiber liquid phase microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the speciation of arsenic (III) and arsenic (V) in fresh waters and human hair extracts. *Analytica Chimica Acta*, 634, 15-21, **2009**.

JIAO, W.; CHEN, W.; CHANG, A. C.; PAGE, A. L. Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: A review. *Environmental Pollution*, 168, 44 - 53, **2012**.

KARAK, T.; ABOLLINO, O.; BHATTACHARYYA, P.; DAS K. K., PAUL, R. Fractionation and speciation of arsenic in three tea gardens soil profiles and distribution of As in different parts of tea plant (*Camellia sinensis* L.). *Chemosphere*, 85, 948-960, **2011**.

KARIM, M. R.; SALAM, K. A.; HOSSAIN, E.; ISLAM, K.; ALI, N.; HAQUE, A.; SAUD, Z. A.; YEASMIN, T.; HOSSAIN, M.; MIYATAKA, H.; HIMENO, S.; HOSSAIN, K. Interaction between chronic arsenic exposure via drinking water and plasma lactate dehydrogenase activity. *Science of the Total Environment*, 409, 278–283, **2010**.

KASSIR, L. N.; DARWISH, T.; SHABAN, A.; OLIVIER, G.; OUAINI, N. Mobility and bioavailability of selected trace elements in Mediterranean red soil amended with phosphate fertilizers: Experimental study. *Geoderma*, 189–190, 357–368, **2012**.

LEHMANN, E. L.; FOSTIER, A. H.; ARRUDA, M. A. Z. Hydride generation using a metallic atomizer after microwave-assisted extraction for inorganic arsenic speciation in biological samples. *Talanta*, 104, 187-192, **2013**.

LIU, B. H. & LI, Z. P. A review: Hydrogen generation from borohydride hydrolysis reaction. *Journal of Power Sources*, 187, 527–534, **2009**.

LUZ, M. S. & OLIVEIRA, P. V. Niobium carbide as permanent modifier for silicon determination in petrochemical products by emulsion-based sampling GF AAS. *Fuel* 116, 255–260, **2014**.

MA, X.; WRIGHT, E.; GE, Y.; BELL, J.; XI, Y.; BOUTON, J.H.; WANG, Z. Improving phosphorus acquisition of white clover (*Trifoliumrepens* L.) by transgenic expression of plant-derived phytase and acid phosphatase genes. *Plant Science*, 176, 479–488, **2009**.

MACEDO, S. M.; SANTOS, D. C.; JESUS, R. M.; ROCHA, G. O.; FERREIRA, S. L. C.; ANDRADE, J. B. Development of an analytical approach for determination of total arsenic and arsenic(III) in airborne particulate matter by slurry sampling and HG-FAAS. *Microchemical Journal*, 96, 46–49, **2010**.

MARAN, J. P.; MANIKANDAN, S.; THIRUGNANASAMBANDHAM, K.; NIVETHA, C. V.; DINESH, R. Box-Behnken design based statistical modeling for ultrasound-assisted extraction of corn silk polysaccharide. *Carbohydrate Polymers*, 92, 604–611, **2013**.

MARANHÃO, T. A.; MARTENDAL, E.; BORGES, D. L.G.; CARASEK, E.; WELZ, B.; CURTIUS, A. J. Cloud point extraction for the determination of lead and cadmium in urine by graphite furnace atomic absorption spectrometry with multivariate optimization using Box-Behnken design. *Spectrochimica Acta Part B*, 62, 1019–1027, **2007**.

MARCHISET-FERLAY, N.; SAVANOVITCH, C.; SAUVANT-ROCHAT, M. What is the best biomarker to assess arsenic exposure via drinking water? *Environment International*, 39, 150–171, **2012**.

MATOS, W. O.; NÓBREGA, J. A.; SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A. Especificação redox de cromo em solo acidentalmente contaminado com solução sulfocrômica. *Química Nova*, 31, 1450–1454, **2008**.

MATUSIEWICZ, H. & ŚLACHCIŃSKI, M. Development of a new hybrid technique for inorganic arsenic speciation analysis by microchip capillary electrophoresis coupled with hydride generation microwave induced plasma spectrometry. *Microchemical Journal*, 102, 61–67, **2012**.

MCCLINTOCK, T. R.; CHEN, Y.; BUND SCHUH, J.; OLIVER, J. T.; NAVONI, J.; OLMOS, V.; LEPORI, E. V.; AHSAN, H.; PARVEZ, F. Arsenic exposure in Latin America: Biomarkers, risk assessments and related health effects. *Science of the Total Environment*, 429, 76–91, **2012**.

MEINHART, A. D.; BALLUS, C. A.; BRUNS, R. E.; PALLONE, J. A. L.; GODOY, H. T. Chemometrics optimization of carbohydrate separations in six food matrices by micellar electrokinetic chromatography with anionic surfactant. *Talanta*, 85, 237–244, **2011**.

MÉNDEZ, H.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Mild sample pretreatment procedures based on photolysis and sonolysis-promoted redox reactions as a new approach for determination of Se(IV), Se(VI) and Se(-II) in model solutions by the hydride generation technique with atomic absorption and fluorescence detection, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19, 1379–1385, **2004**.

MORAES, P.M.; SANTOS, F. A.; CAVECCI, B.; PADILHA, C. C. F.; J. C.S., VIEIRA; P. S., ROLDAN; P. M. PADILHA. GFAAS determination of mercury in muscle samples of fish from Amazon, Brazil. *Food Chemistry*, 141, 2614–2617, **2013**.

NACKE, H.; GONÇALVES JR., A. C.; SCHWANTES, D.; NAVA, I. A.; STREY, L.; COELHO, G. F. Availability of Heavy Metals (Cd, Pb, and Cr) in Agriculture from Commercial Fertilizers. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 64, 537–544, **2013**.

NARANMANDURA, H.; BU, N.; SUZUKI, K. T.; LOU, Y.; OGRA, Y. Distribution and speciation of arsenic after intravenous administration of monomethylmonothioarsonic acid in rats. *Chemosphere*, 81, 206–213, **2010**.

NEVES, R. C. F; MORAES, P. M.; SALEH, M. A. D.; LOUREIRO, V. R.; SILVA, F. A.; BARROS, M. M.; PADILHA, C. C. F.; JORGE, S. M. A.; PADILHA, P. M. FAAS determination of metal nutrients in fish feed after ultrasound extraction. *Food Chemistry*, 113, 679–683, **2009**.

NIEDZIELSKI, P. & SIEPAK, M. Analytical Methods for Determining Arsenic, Antimony and Selenium in Environmental Samples. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12, 653-667, **2003**.

OLIVEIRA, M. S.; SANTANA, R. C.; ATAÍDE, C. H.; BARROZO, M. A. S. Recovery of apatite from flotation tailings. *Separation and Purification Technology*, 79, 79–84, **2011**.

OLIVEIRA, R. F.; WINDMÖLLER, C. C.; BORGES NETO, W.; SOUZA, C. C.; BEINNERD, M. A.; SILVA, J. B. B. Determination of cadmium and lead in cassava employing slurry sampling and graphite furnace atomic absorption spectrometry after multivariate optimization. *Analytical Methods*, 5, 5746-5752, **2013**.

OLIVEIRA, S. R.; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A.; JONES, B. T. Determination of macro and micronutrients in plant leaves by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry combining instrumental and sample preparation strategies. *Spectrochimica Acta Part B*, 65, 316–320, **2010**.

PAGLIANO, E.; ONOR, M.; MEJIA, J.; MESTER, Z.; STURGEON, R. E.; D'ULIVO, A. Mechanism of hydrogen transfer in arsane generation by aqueous tetrahydridoborate: Interference effects of Au^{III} and other noble metals. *Spectrochimica Acta Part B*, 66, 740–747, **2011**.

PASIAS, I. N.; THOMAIDIS, N. S.; BAKEAS, E. B.; PIPERAKI, E. A. Application of zirconium–iridium permanent modifier for the simultaneous determination of lead, cadmium, arsenic, and nickel in atmospheric particulate matter by multi-element electrothermal atomic absorption spectrometry. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185, 6867–6879, **2013**.

PAULA, C. E. R.; CALDAS, L. F. S.; BRUM, D. M.; CASSELLA, R. J. Development of a focused ultrasound-assisted extraction method for the determination of trace concentrations of Cr and Mn in pharmaceutical formulations by ETAAS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 74, 284–290, **2013**.

PEREIRA, C. D.; AGUIRRE, M. A.; NÓBREGA, J. A.; HIDALGO, M.; CANALS, A. Aerosol generation of As and Se hydrides using a new Flow Blurring® multiple nebulizer for sample introduction in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Microchemical Journal*, 112, 82–86, **2014**.

PEREIRA, L. A.; AMORIM, I.; SILVA, J. B. B. Determination of cadmium, chromium and lead in marine sediment slurry samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using permanent modifiers. *Talanta*, 68, 771–775, **2006**.

PONTES, F. V. M; MENDES, B. A. O.; SOUZA, E. M. F; FERREIRA, F. N.; SILVA, L. I. D.; CARNEIRO, M. C.; MONTEIRO, M. I. C.; ALMEIDA, M. D.; ALCOVER NETO, A.; VAITSMAN, D. S. Determination of metals in coal fly ashes using ultrasound-assisted digestion followed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 659, 55–59, **2010**.

PRIEGO-CAPOTE, F. & CASTRO M. Ultrasound-assisted digestion: A useful alternative in sample preparation. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70, 299–310, **2007**.

PRŮŠA, L.; DĚDINA, J.; KRATZERA, J. Ultratrace determination of tin by hydride generation in-atomizer trapping atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 804, 50–58, **2013**.

REGUERA, C.; ORTIZ, M. C.; HERRERO, A.; SARABIA, L. A. Optimization of a FIA system with amperometric detection by means of a desirability function determination of sulfadiazine, sulfamethazine and sulfamerazine in milk. *Talanta*, 75, 274–283, **2008**.

REYES, M. N. M.; CERVERA, M. L.; CAMPOS, R. C.; GUARDIA, M. Non-chromatographic speciation of toxic arsenic in vegetables by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry after ultrasound-assisted extraction. *Talanta*, 75, 811–816, **2008**.

REYES, M.; CERVERA, M.; CAMPOS, R.; GUARDIA, M. Determination of arsenite, arsenate, monomethylarsonic acid and dimethylarsinic acid in cereals by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, 62, 1078–1082, **2007**.

REZENDE, H. C. Pré-concentração por extração em ponto nuvem para determinação de cádmio em amostras de bebidas por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico. Dissertação de mestrado, *Universidade Federal de Uberlândia*, **2010**.

RIVAS, R. E.; LÓPEZ-GARCÍA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters using dispersive liquid–liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, 64, 329–333, **2009**.

ROCHEBROCHARD, S.; NAFFRECHOUX, E.; DROGUI, P.; MERCIER, G.; BLAIS, J. Low frequency ultrasound-assisted leaching of sewage sludge for toxic metal removal, dewatering and fertilizing properties preservation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 109–117, **2013**.

ROSELLI, C.; DESIDERI, D.; MELI, M. A.; FEDUZI, L. Sequential extraction for the leachability evaluation of phosphate fertilizers. *Microchemical Journal*, 95, 373–376, **2010**.

RYU, J.; GAO, S.; TANJI, K. Accumulation and speciation of selenium in evaporation basins in California, USA, *Journal of Geochemical Exploration*, 110, 216-224, **2011**.

SABIHA-JAVIED; MEHMOOD, T.; CHAUDHRY, M. M.; TUFAIL, M.; IRFAN, N. Heavy metal pollution from phosphate rock used for the production of fertilizer in Pakistan. *Microchemical Journal*, 91, 94–99, **2009**.

SANTOS, L. N.; GOMES NETO, J. A.; CALDAS, N. M. Simultaneous determination of Cu and Pb in fuel ethanol by graphite furnace AAS using tungsten permanent modifier with co-injection of Ir. *Fuel*, 99, 9–12, **2012**.

SAUEIA, C. H. R.; BOURLEGAT, F. M.; MAZZILLI, B. P.; FÁVARO, D. I. T. Availability of metals and radionuclides present in phosphogypsum and phosphate fertilizers used in Brazil. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 297, 189–195, **2013**.

SERESHTI, H.; HERAVI, Y.E.; SAMADI, S. Optimized ultrasound-assisted emulsification micro extraction for simultaneous trace multi element determination of heavy metals in real water samples by ICP-OES. *Talanta*, 97, 235–241, **2012**.

SILVA, J. B. B.; SILVA, M. A. M.; CURTIUS, A. D.; WELZ, B. Determination of Ag, Pb and Sn in aqua regia extracts from sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry using Ru as a permanent modifier. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14, 1737 - 1742, **1999**.

SLOTNICK, M. J.; NRIAGU, J. O. Validity of human nails as a biomarker of arsenic and selenium exposure: A review. *Environmental Research*, 102, 125–139, **2006**.

SOARES, A. R. & NASCENTES, C. C. Development of a simple method for the determination of lead in lipstick using alkaline solubilization and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 105, 272–277, **2013**.

STATISTICA FOR WINDOWS, Statsoft, Tulsa, OK, 1999.

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

TARLEY, C. R. T.; LIMA, G. F.; NASCIMENTO, D. R.; ASSIS, A. R. S.; RIBEIRO, E. S.; DINIZ, K. M.; BEZERRA, M. A.; SEGATELLI, M. G. Novel on-line sequential preconcentration system of Cr(III) and Cr(VI) hyphenated with flame atomic absorption spectrometry exploiting sorbents based on chemically modified silica. *Talanta*, 100, 71–79, 2012.

TARLEY, C. R. T.; SILVEIRA, G.; SANTOS, W. N. L.; MATOS, G. D.; SILVA, E. G. P.; BEZERRA, M. A.; MIRÓ, M.; FERREIRA, S. L. C. Chemometric tools in electroanalytical chemistry: Methods for optimization based on factorial design and response surface methodology. *Microchemical Journal*, 92, 58–67, 2009.

TEIXEIRA, L. S.; VIEIRA, H. P.; WINDMÖLLER, C. C.; NASCENTES, C. C. Fast determination of trace elements in organic fertilizers using a cup-horn reactor for ultrasound-assisted extraction and fast sequential flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 119, 232–239, 2014.

TEÓFILO, R. F. & FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. *Química Nova*, 29, 338-350, 2006.

TÓTH, G.; GUICHARNAUD, R.; TÓTH, B.; HERMANN, T. Phosphorus levels in croplands of the European Union with implications for P fertilizer use. *European Journal of Agronomy*, 55, 42–52, 2014.

TREVIZAN, L. C.; SANTOS Jr., D.; SAMAD, R. E.; VIEIRA Jr., N. D; NUNES, L. C.; RUFINI, I. A.; KRUG, F. J. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of micronutrients in plant materials. *Spectrochimica Acta Part B*, 64, 369–377, 2009.

TSALEV, D. L.; SLAVEYKOVA, V. I.; LAMPUGNANI, L.; D'ULIVO, A.; GEORGIEVA, A. Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry - advances, anticipations and reality. *Spectrochimica Acta Part B*, 55, 473 – 490, 2000.

TUZEN, M.; SAYGI, K. O.; KARAMAN, I.; SOYLAK, M. Selective speciation and determination of inorganic arsenic in water, food and biological samples. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 41–46, 2010.

ULUSOY, H. I.; AKÇAY, M.; ULUSOY, S.; GÜRKAN, R. Determination of ultra trace arsenic species in water samples by hydride generation atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. *Analytica Chimica Acta*, 703, 137– 144, 2011.

WANG, Y.; XIE, J.; WU, Y.; HU, X.; YANG, C.; XU, Q. Determination of trace amounts of Se(IV) by hydride generation atomic fluorescence spectrometry after solid-phase extraction using magnetic multi-walled carbon nanotubes. *Talanta*, 112, 123–128, 2013.

WATSON, C. A.; ÖBORN, I.; EDWARDS, A. C.; DAHLIN, A. S.; ERIKSSON, J.; LINDSTRÖM, B. E. M.; LINSE, L.; OWENS, K.; TOPP, C. F. E.; WALKER, R. L. Using soil and plant properties and farm management practices to improve the micronutrient composition of food and feed. *Journal of Geochemical Exploration*, 121, 15–24, **2012**.

WIETESKA, E.; ZIÓEK, A.; DRZEWINSKA, A. Extraction as a method for preparation of vegetable samples for the determination of trace metals by atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 330, 251–257, **1996**.

WU, H.; WANG, X.; LIU, B.; LIU, Y.; LI, S.; LU, J.; TIAN, J.; ZHAO, W.; YANG, Z. Simultaneous speciation of inorganic arsenic and antimony in water samples by hydride generation-double channel atomic fluorescence spectrometry with on-line solid-phase extraction using single-walled carbon nanotubes micro-column. *Spectrochimica Acta Part B*, 66, 74–80, **2011**.

WU, L.; TAN, C.; LIU, L.; ZHU, P.; PENG, C.; LUO, Y.; CHRISTIE, P. Cadmium bioavailability in surface soils receiving long-term applications of inorganic fertilizers and pig manure. *Geoderma*, 173–174, 224–230, **2012**.

XU, X.; HE, P.; PAMPOLINO, M. F.; JOHNSTON, A. M.; QIU, S.; ZHAO, S.; CHUAN, L.; ZHOU, W. Fertilizer recommendation for maize in China based on yield response and agronomic efficiency. *Field Crops Research*, 157, 27–34, **2014**.

YANG, G.; MA, L.; XU, D.; LI, J.; HE, T.; LIU, L.; JIA, H.; ZHANG, Y.; CHEN, Y.; CHAI, Z. Levels and speciation of arsenic in the atmosphere in Beijing, China. *Chemosphere*, 87, 845–850, **2012**.

YANG, G.; XU, J.; ZHENG, J.; XU, X.; WANG, W.; XU, L.; CHEN, G.; FU, F. Speciation analysis of arsenic in *Myaarenaria* Linnaeus and *Shrimp* with capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta*, 78, 471–476, **2009**.

YILMAZ, V.; ARSLAN, Z.; ROSE, L. Determination of lead by hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry (HG-ICP-MS): On-line generation of plumbane using potassium hexacyanomanganate(III). *Analytica Chimica Acta*, 761, 18–26, **2013**.

YU-KUI, R.; JING, H.; FAFU, R. Determination of seven plant nutritional elements in potassium dihydrogen phosphate fertilizer from northeastern China. *Journal of Saudi Chemical Society*, 16, 89–90, **2012**.

ZHANG, Y.; ZHENG, C.; HOU, X.; XU, K. Online multichannel ultrasonic extraction for high throughput determination of arsenic in soil by sequential injection slurry hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Analytical Methods*, 5, 3142–3147, **2013**.

ZHAO, R.; ZHAO, M.; WANG, H.; TANEIKE, Y.; ZHANG, X. Arsenic speciation in moso bamboo shoot - A terrestrial plant that contains organoarsenic species. *Science of the Total Environment*, 371, 293–303, **2006**.

ZINI, J.; FERREIRA, J. C.; CARVALHO, F. M. S.; BUSTILLOS, J. O. W. V.; SCAPIN, M. A.; SALVADOR, V. L. R.; ABRÃO, A. Estudo de metais e de substâncias tóxicas em brinquedos. *Química Nova*, 32, 833-838, **2009**.

APÊNDICE

Publicações no Período do Doutorado

Artigos Publicados

MELO, E. I.; COELHO, N. M. M.; REZENDE, H. C.; MADURRO, A. G. B.; MADURRO, J.M. Surface proprieties of sensors based on aminophenol-polymerized film. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 16, 945-951, **2012**.

REZENDE, H. C. ; NASCENTES, C. C. ; COELHO, N. M. M. Cloud point extraction for determination of cadmium in soft drinks by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 97, 118-121, **2011**.

COELHO, N. M. M.; MELO, E. I.; FRANCO, D. L.; Afonso, A. S.; REZENDE, H. C.; MADURRO, A. G. B.; MADURRO, J. M. A. biosensor using poly(4 aminophenol)/acetylcholinesterase modified graphite electrode for detection of dichlorvos. *Brazilian Archives of Biology and Technology (Impresso)*, 54, 1217-1222, **2011**.

ARAÚJO, C. S. T.; ALVES, V. N.; REZENDE, H. C.; ALMEIDA, I. L. S.; ASSUNÇÃO, R. M. N.; TARLEY, C. R.T.; SEGATELLI, M. G.; COELHO, N. M. M. Characterization and use of Moringa oleifera seeds as biosorbent for removing metal ions from aqueous effluents. *Water Science and Technology*, 62, 2198 - 2203, **2010**.

ARAÚJO, C. S. T.; ALVES, V. N.; REZENDE, H. C.; COELHO, N. M. M. Development of a flow system for the determination of low concentrations of silver using Moringa oleifera seeds as biosorbent and flame atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 96, 82 - 85, **2010**.

Artigos Aceitos para Publicação

REZENDE, H. C. ; NASCENTES, C. C. ; COELHO, N. M. M. Determination of total arsenic and arsenic (III) in phosphate fertilizers by hydride generation atomic absorption spectrometry after ultrasound-assisted extraction based a control acid media. *Journal of Association Official Analytical Chemistry*, 97, 01-06, **2014**.

Capítulo de Livro

Araujo, C. S. T.; Carvalho, D. C.; Rezende, H. C.; Almeida, I. L. S.; Coelho, L. M.; Coelho, N. M. M.; Marques, T. L.; Alves, V. N. Bioremediation of waters contaminated with heavy metals using moringa oleifera seeds as biosorbent. In: Dr. Yogesh B. Patil; Dr. Prakash Rao. (Org.). *Applied Bioremediation - Active and Passive Approaches*. 1ed.: InTech, 225-253, **2013**.

Trabalhos Apresentados em Congressos

REZENDE, H. C.; COELHO, N. M. M. Estudo das condições experimentais para determinação de cromo em fertilizantes fosfatados por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e extração por ultrasson. *53º Congresso Brasileiro de Química*, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro, **2013**.

REZENDE, H.C.; ALMEIDA, I.L.S.; COELHO, N.M.M.; SANTOS, D.M. ;PEREIRA, A.G.; BUKZEM, A. L.; ASCHERI, D.P.R.; ARAÚJO, C.S.T. Biosorção de Pb(II) utilizando sub-produto derivado da produção de cerveja. *53º Congresso Brasileiro de Química*, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro, **2013**.

REZENDE, H. C. ; FREITAS, A. P. ; COELHO, N. M. M. ; ARAÚJO, C. S. T. Extração de Cd, Pb, Cu e Ni em fertilizantes fosfatados empregando radiação ultrasônica. *52º Congresso Brasileiro de Química*, Recife-Pernambuco, **2012**.

ARAÚJO, C. S. T. ; REZENDE, H. C. ; ALCANTARA, M. M. ; OLIVEIRA, V. ; NETA, R. A. M. ; MATOS, T. N. ; COELHO, N. M. M. Avaliação da adsorção de Pb(II) utilizando cascas de Pequi (*Caryocar brasiliense*) como material adsorvente. *52º Congresso Brasileiro de Química*, Recife-Pernambuco, **2012**.

REZENDE, H. C. ; ARAÚJO, C. S. T. ; ALCANTARA, M. M. ; NETA, R. A. M. ; MATOS, T. N. ; SILVA, M. R. D. ; SOUZA, N. R. ; COELHO, N. M. M. . Estudo da remoção de chumbo utilizando jatobá (*Hymenaea stigonocarpa*) como material adsorvente. *5º Congresso Ibero-americano de Química Analítica e 2º Congresso Uruguai de Química Analítica*, Montevidéu - Uruguai, **2012**.

REZENDE, H. C. ; COELHO, N. M. M. Otimização das condições experimentais para a especiação de arsênio inorgânico em fertilizantes fosfatados utilizando HG AAS. *5º Congresso Ibero-americano de Química Analítica e 2º Congresso Uruguai de Química Analítica*, Montevidéu - Uruguai, **2012**.

NETA, R. A. M. ; MATOS, T. N. ; OLIVEIRA, V. ; ALCANTARA, M. M. ; REZENDE, H. C. ; COELHO, N. M. M. ; ARAÚJO, C. S. T. Estudos envolvendo o uso de vagens de Moringa Oleifera na biossorção de Cd(II) em sistemas aquosos. *X Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Goiás*, Anápolis - Goiás, **2012**.

REZENDE, H. C.; COELHO, N. M. M. Emprego da radiação ultrassônica na extração de cádmio e chumbo em fertilizantes fosfatados. *16º Encontro Nacional de Química Analítica*, Campos do Jordão - São Paulo, **2011**.

REZENDE, H. C.; COELHO, N. M. M. Determinação de Cádmio, Cromo e Chumbo em Fertilizantes Fosfatados. *34ª Reunião Anual da SBQ*, Florianópolis - Santa Catarina, **2011**.
ALMEIDA, I. L. S.; REZENDE, H. C.; RIBEIRO, G. C.; OLIVEIRA, E.; COELHO, N. M. M. Tratamento dos resíduos químicos gerados nas aulas de química analítica qualitativa da Universidade Federal de Uberlândia – UFU. *50º Congresso Brasileiro de Química*, Cuiabá - Mato Grosso, **2010**.

REZENDE, H. C.; NASCENTES, C. C.; COELHO, N. M. M. Multivariate studies for extraction of cadmium using cloud point and detection by TS-FF-AAS. *11th Rio Symposium on Atomic Spectrometry*, Mar del Plata - Argentina, **2010**.

REZENDE, H. C.; COELHO, N. M. M. Determinação de cromo (VI) utilizando método espectrofotométrico. *II Encontro Nacional de Especiação Química*, São Pedro - São Paulo, **2010**.

ANEXO



National Institute of Standards & Technology

Certificate of Analysis

Standard Reference Material® 695

Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer

This Standard Reference Material (SRM) is intended primarily for use in the evaluation of techniques employed in the analysis of multi-nutrient fertilizer materials and materials of a similar matrix. One unit of SRM 695 consists of approximately 70 g of jet-milled fertilizer.

Certified Values: The certified concentrations for 17 elements, expressed as mass fractions [1] on a dry basis, are provided in Table 1. Certified values are based on results from critically evaluated independent analytical techniques. A NIST certified value is a value for which NIST has the highest confidence in its accuracy in that all known or suspected sources of bias have been investigated or accounted for by NIST [2].

Reference Values: The reference values for 5 constituents, expressed as mass fractions on a dry basis, are provided in Table 2. The reference values are based on results obtained from a single NIST analytical method. Reference values are non-certified values that are the best estimate of the true value; however, the values do not meet NIST criteria for certification and are provided with associated uncertainties that may not include all sources of uncertainty [2].

Information Values: The values for two elements are provided in Table 3 for information purposes only. These are non-certified values with no uncertainty assessed. The information values included in this certificate are based on results from one NIST method.

Expiration of Certification: The certification of SRM 695 is valid, within the measurement uncertainties specified, until **01 April 2016**, provided the SRM is handled in accordance with the instructions given in this certificate (see "Instructions for Use"). This certification is nullified if the SRM is contaminated or otherwise modified.

Maintenance of SRM Certification: NIST will monitor representative samples of this SRM over the period of its certification. If substantive changes occur that affect the certification before the expiration of this certificate, NIST will notify the purchaser. Registration (see attached sheet) will facilitate notification.

E.A. Mackey of the NIST Analytical Chemistry Division was responsible for coordination of the technical measurements leading to certification.

Statistical analyses leading to the certified and reference values were performed by S.D. Leigh of the NIST Statistical Engineering Division.

The support aspects involved in the issuance of this SRM were coordinated through the NIST Measurement Services Division.

Stephen A. Wise, Chief
Analytical Chemistry Division

Gaithersburg, MD 20899
Certificate Issue Date: 26 June 2006

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

INSTRUCTIONS FOR USE

Sampling: The SRM should be thoroughly mixed by repeatedly inverting and rotating the bottle horizontally before sampling. A minimum sample mass of 200 mg should be used for analytical determinations to be related to elemental concentration values provided. The SRM should be stored in its original, tightly sealed bottle away from intense sources of heat.

Drying: In order to relate measurements to the certified and reference values that are expressed on a dry mass basis, users should determine a drying correction at the time of each analysis. The recommended drying procedure is desiccator drying of portions with a depth \leq 0.5 cm, for two weeks, over fresh magnesium perchlorate. The average mass loss measured at NIST using this method for six portions of SRM 695 was 1.34 % ($1\text{ s} = 0.06\%$). Oven drying, even at relatively low temperatures (85 °C), can result in decomposition of the carbonate and ammonium (and possibly other) compounds in this blended fertilizer material. **DO NOT** dry SRM 695 in an oven to determine the dry-mass basis.

SOURCE, PREPARATION, AND ANALYSIS

This multi-nutrient blended fertilizer was developed in collaboration with members of the Association of American Plant Food Control Officials (AAFPCO) and The Fertilizer Institute (TFI). The material used to prepare SRM 695 was provided to NIST by William L. Hall Jr. (The Mosaic Company). The material consists of urea, diammonium hydrogen phosphate, calcium carbonate, potassium chloride, potassium nitrate, and potassium magnesium sulfate, and various other metal sulfates. The material was ground and shipped to NIST where the material was jet-milled, blended, and bottled by C. Fales of the Measurement Services Division.

Analyses of this material used for certification were performed at NIST (Gaithersburg, MD) and at the United States Geological Survey (Denver, CO). The analytical techniques used for each element are listed in Table 4; the analysts are listed in Table 5.

Table 1. Certified Values for Selected Elements (Dry Mass Basis) in SRM 695

Major and Minor Constituent Elements (a)						
Elements	Mass Fraction (%)			Mass Fraction (%)		
Calcium	2.26	\pm	0.04	Manganese	0.305	\pm 0.005
Iron	3.99	\pm	0.08	Sodium	0.405	\pm 0.007
Magnesium	1.79	\pm	0.05	Potassium	11.65	\pm 0.13
				Zinc	0.325	\pm 0.005
Trace Elements (a)						
Elements	Mass Fraction (mg/kg)		Elements	Mass Fraction (mg/kg)		
Arsenic	200	\pm	5	Mercury	1.955	\pm 0.036
Cadmium	16.9	\pm	0.2	Molybdenum	20.0	\pm 0.3
Chromium	244	\pm	6	Nickel	135	\pm 2
Cobalt	65.3	\pm	2.4	Lead	273	\pm 17
Copper	1225	\pm	9	Vanadium	122	\pm 3

(a) Certified values for all elements except arsenic and mercury are the unweighted means of results from two or three analytical methods. The uncertainty listed with each value is an expanded uncertainty about the mean, with coverage factor 2, calculated by combining a between-method variance with a pooled, within method variance [3] following the ISO and NIST Guides [4]. The certified values for As and Hg are each results from a single NIST method (INAA for As, and CV-ID-ICP-MS for Hg) for which a complete evaluation of all sources of

uncertainty has been performed. The uncertainty for each certified value represents an expanded uncertainty with a coverage factor of 2, with uncertainty components combined following the ISO and NIST Guides [4].

Table 2. Reference Values (Dry Mass Basis) for Selected Elements in SRM 695

Major and Minor Constituent Elements (a)

Element	Mass Fraction (%)
Aluminum	0.61 ± 0.03
Boron	0.111 ± 0.002
Nitrogen	13.9 ± 0.4
Phosphorous	7.2 ± 0.1

Trace Elements (a)

Elements	Mass Fraction (mg/kg)
Selenium	2.1 ± 0.1

(a) Reference values for all elements except aluminum are based on results of one analytical method at NIST and the uncertainty values represent the expanded uncertainties which include the combined Type A and Type B with a coverage factor of 2, following the ISO and NIST Guides [4]. The certified value for aluminum is the unweighted mean of results from two analytical methods and the uncertainty listed is an expanded uncertainty about the mean, with coverage factor 2, calculated by combining a between-method variance with a pooled, within method variance [3] following the ISO and NIST Guides [4].

Table 3. Information Values (Dry Mass Basis) for Selected Elements in SRM 695 (a)

Element	Mass Fraction
Chlorine	4.6 %
Titanium	310 mg/kg

(a) Information values are based on results of one analytical method at NIST.

Table 4. Methods of Analysis for SRM 695

Element	Method(s)
Al	INAA, XRF
As	INAA
B	PGAA
Ca	XRF, INAA
Cd	ID-ICP-MS, PGAA
Cl	INAA
Co	INAA, XRF
Cr	INAA, XRF
Cu	ID-ICP-MS, ICP-OES, XRF
Fe	INAA, PGAA, XRF
Hg	CV ID-ICP-MS
K	PGAA, XRF
Mg	INAA, XRF
Mn	PGAA, XRF, INAA
Mo	ICP-OES, XRF
N	PGAA
Na	INAA, XRF
Ni	ICP-OES, XRF
P	XRF
Pb	ICP-OES, XRF
Se	INAA
Ti	XRF
V	INAA, XRF
Zn	INAA, XRF

Methods:

CV ID-ICP-MS	Cold Vapor, Isotope Dilution, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry
ID-ICP-MS	Isotope Dilution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
INAA	Instrumental Neutron Activation Analysis
HG-AAS	Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry
PGAA	Prompt Gamma-ray Activation Analysis
XRF	X-ray Fluorescence Spectrometry

Table 5. Analysts for SRM 695

NIST Analytical Chemistry Division

S.E. Long	M.S. Rearick
E.A. Mackey	J.R. Sieber
R. Oflaz	L.J. Wood
A.F. Marlow	L.L. Yu
K.E. Murphy	

United States Geological Survey, Denver, CO

S.A. Wilson	Z.A. Brown
P.H. Briggs	J. Budahn

REFERENCES

- [1] Taylor, B.N.; *Guide for the Use of the International System of Units (SI)*, NIST Special Publication 811 (1995).
- [2] May, W.E.; Gills, T.E.; Parris, R.; Beck, II, C.M.; Fassett, J.D.; Gettings, R.J.; Greenberg, R.R.; Guenther, F.R.; Kramer, G.; MacDonald, B.S.; Wise, S.A.; *Definitions of Terms and Modes Used at NIST for Value-Assignment of Reference Materials for Chemical Measurements*, NIST Special Publication 260-136 (1999).
- [3] Levenson, M.S.; Banks, D.L.; Eberhardt, K.R.; Gill, L.M.; Guthrie, W.F.; Liu, H.K.; Vangel, M.G.; Yen, J.H.; Zhang, N.F.; J. Res. NIST 105, pp. 571-549 (2000).
- [4] ISO; *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*, ISBN 92-67-10188-9, 1st ed.; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland (1993); see also Taylor, B.N.; Kuyatt, C.E.; *Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results*, NIST Technical Note 1297, U.S. Government Printing Office, Washington, DC (1994); available at <http://physics.nist.gov/Pubs/>.

Users of this SRM should ensure that the certificate in their possession is current. This can be accomplished by contacting the SRM Program at: telephone (301) 975-6776; fax (301) 926-4751; e-mail srminfo@nist.gov; or via the Internet at <http://www.nist.gov/srm>.

ADDENDUM

Results from Test Method for Determination of Analysis of As, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, and Se in Fertilizers by Microwave Digestion in Nitric Acid and ICP-OES Detection

The certified, reference and information values presented in the Certificate of Analysis for SRM 695 represent the total element content per unit mass of material. These values are obtained either from methods that are non-destructive such as instrumental neutron activation analysis or methods that involve a complete dissolution of the material prior to performing measurements. For more routine analysis of metals in fertilizer materials, a method was developed and tested by members of the Association of American Plant Food Control Officials (AAPFCO). William Hall initiated the development of this method and Peter Kane coordinated and led this study in which ten laboratories participated. This test method involves microwave digestion with concentrated nitric acid followed by ICP-OES detection and is described in detail elsewhere [1].

Note that this digestion method does not completely dissolve this fertilizer material. Results indicate that some elements are completely extracted but that others are not. The results obtained using this method are shown in Table 1, together with the total element content as determined at NIST for certification of this material, and the percent recovery defined as the ratio of the values obtained from the test method to total element content determined for certification of SRM 695. Collaborating laboratories and analysts are listed in Table 2.

Table 1. Results from Test Method for Determination of As Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, and Se in Fertilizers^(a).

Element	Test Method Results Average Mass Fraction (1s); Range (mg/kg) ^(b)	% Recovery Average; Range	Total Element Content Mass Fraction (mg/kg) ^(b)
As	193 (19); 171 - 235	96%; 85% - 117%	200 (5)
Cd	16.1 (2.9); 12.4 - 23.2	95%; 74% - 137%	16.9 (0.2)
Co	47.5 (12.3); 27.4 - 65.7	73%; 42% - 101%	65.3 (2.4)
Cr	174 (19); 136 - 192	71%; 56% - 79%	244 (6)
Mo	14.0 (2.0); 10.2 - 16.8	70%; 51% - 84%	20.0 (0.3)
Ni	112 (15); 85 - 131	83%; 63% - 97%	135 (2)
Pb	257 (15); 231 - 281	94%; 85% - 103%	273 (17)

^(a) Selenium values are not included because the mass fraction of Se in SRM 695 is below the method detection limit.

^(b) The values shown here are the certified total element mass fraction values from Table 1 of the Certificate of Analysis.

Table 2. Collaborating Laboratories and Analysts:

James Bartos	Division of Regulatory Services, University of Kentucky
Rhonda Boles	Experiment Station, University of Missouri
M. Dupuis	Ottawa Lab (Carling) Canadian Food Inspection Agency
Elaine Hasty	CEM Corporation
William Hall, Charles Kinsey and Kwasi Sakyi-Amfo	The Mosaic Company
Peter Kane, Sally Mullins and Natalie Newlon	Office of the Indiana State Chemist
Judy Purkiss	Michigan Department of Agriculture
Christine Rivera	Varian Inc.
Wayne Robarge	North Carolina State University
Craig Seeley	Teledyne Leeman Labs
Sanford Seigel	CF Industries
Marcus Svee	Montana Department of Agriculture
Terri Van Erem	South Dakota State University
Argentina Vindiola	Office of the Texas State Chemist

REFERENCE

- [1] Kane, P.F.; Hall, W.L., Jr.; *Analysis of Arsenic, Cadmium, Cobalt, Chromium, Lead, Molybdenum, Nickel, and Selenium by Microwave Digestion and ICP-OES Detection: Collaborative Study*, Paper 2006-17920 of the Office of Indiana State Chemist, Purdue University Agricultural Experiment Station, W. Lafayette, IN (2006).